

us

**VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS**

**PCT**

**INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT**

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts <b>JH/m1002053</b>	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5	
Internationales Aktenzeichen <b>PCT/ EP 00/ 08929</b>	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) <b>13/09/2000</b>	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr) <b>13/09/1999</b>
Anmelder  <b>HÖLKER, Udo</b>		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der Internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem Internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 2 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

**1. Grundlage des Berichts**

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.

- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das

☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.

☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.

☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.

☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.

☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

**4. Hinsichtlich der Bezeichnung der Erfindung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

**5. Hinsichtlich der Zusammenfassung**

☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.

☐ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichen: Abb. Nr. 3

☒ wie vom Anmelder vorgeschlagen

☐ keine der Abb.

☐ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.

☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.



A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
C12M1/04,B09B3/00Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK <sup>6</sup>

B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
C12M,B09B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X  A	US 5153137 A (LAURENSEN, JR.) 06 Oktober 1992, ganzes Dokument.  --	19, 20,  1
X  A	AT 395859 B (PORR UMWELTECHNIK AKTIENGESELLSCHAFT) 25 März 1993, Ansprüche 1, 5, 7, 8.  --	19, 20, 21, 23  1, 9
X  A	AT 395686 B (RANNER DIETRICH) 25 Februar 1993, Ansprüche 1, 2.  ----	19, 20  1

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist.

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist.

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

06 Dezember 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

24. 01. 2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

WOLF



## ANHANG

Zum internationalen Recherche-  
bericht über die internationale Patent-  
anmeldung Nr.

## ANNEX

To the International Search  
Report to the international Patent  
Application No.

## ANNEXE

Au rapport de recherche inter-  
national relatif à la demande de  
brevet international n°

PCT/EP 00/08929 SAE 303370

In diesem Anhang sind die Mitglieder der  
Patentfamilien der im obengenannten  
internationalen Recherchebericht  
angeführten Patentedokumente angegeben.  
Diese Angaben dienen nur zur  
Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

This annex lists the patent family members  
relating to the patent documents cited in the  
above-mentioned search report.  
The European Patent Office is in no way  
liable for these particulars which are merely  
given for the purpose of information.

La présente annexe indique les membres de  
la famille de brevets relatifs aux documents  
de brevets cités dans le rapport de  
recherche international visée ci-dessus. Les  
renseignements fournis sont donnés à titre  
indicatif et n'engagent pas la responsabilité  
de l' Office.

Im Recherchenbericht angeführte Patentedokumente Patent document cited in search report Document de brevet cité dans le rapport de recherche	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication	Mitglied(er) der Patentfamilie Patent family member(s) Membre(s) de la famille de brevets	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication
US A 5153137	06-10-1992	CA A1 1256711	04-07-1989
		DE C0 3577694	21-06-1990
		EP A2 173502	05-03-1986
		EP A3 173502	04-03-1987
		EP B1 173502	16-05-1990
		US A 4837153	06-06-1989
		US A 5092407	03-03-1992
		US A 5175106	29-12-1992
AT B 395859	25-03-1993	AT A 799/91	15-08-1992
		CS A3 9201139	18-11-1992
		DE C0 59201253	09-03-1995
		DK T3 509980	26-06-1995
		EP A2 509980	21-10-1992
		EP A3 509980	09-02-1994
		EP B1 509980	25-01-1995
		ES T3 2069406	01-05-1995
		FI A0 921721	16-04-1992
		FI A 921721	17-10-1992
		HU A0 9201301	29-06-1992
		HU A2 68812	28-07-1995
		NO A0 921484	14-04-1992
		NO A 921484	19-10-1992
AT B 395686	25-02-1993	AT A 2442/90	15-07-1992
		DE C0 59105442	14-06-1995
		DK T3 489705	09-10-1995
		EP A2 489705	10-06-1992
		EP A3 489705	10-02-1993
		EP B1 489705	10-05-1995
		EP B2 489705	06-05-1999
		ES T3 2074696	16-09-1995
		ES T5 2074696	16-09-1999
		FI A0 915696	03-12-1991
		FI A 915696	04-06-1992
		FI B1 104473	15-02-2000
		NO A0 914709	29-11-1991
		NO A 914709	04-06-1992
		NO B 179863	23-09-1996
		NO C 179863	08-01-1997



# PATENT COOPERATION TREATY

**PCT**

## NOTIFICATION OF ELECTION

(PCT Rule 61.2)

From the INTERNATIONAL BUREAU

To:

Commissioner  
US Department of Commerce  
United States Patent and Trademark  
Office, PCT  
2011 South Clark Place Room  
CP2/5C24  
Arlington, VA 22202  
ETATS-UNIS D'AMERIQUE  
in its capacity as elected Office

<b>Date of mailing (day/month/year)</b> 28 May 2001 (28.05.01)	
<b>International application No.</b> PCT/EP00/08929	<b>Applicant's or agent's file reference</b> JH/ml002053
<b>International filing date (day/month/year)</b> 13 September 2000 (13.09.00)	<b>Priority date (day/month/year)</b> 13 September 1999 (13.09.99)
<b>Applicant</b> HÖLKER, Udo	

1. The designated Office is hereby notified of its election made:

☒ in the demand filed with the International Preliminary Examining Authority on:  
06 February 2001 (06.02.01)

☐ in a notice effecting later election filed with the International Bureau on:

2. The election ☒ was  
☐ was not

made before the expiration of 19 months from the priority date or, where Rule 32 applies, within the time limit under Rule 32.2(b).

<b>The International Bureau of WIPO</b> 34, chemin des Colombettes 1211 Geneva 20, Switzerland Facsimile No.: (41-22) 740.14.35	<b>Authorized officer</b> Claudio Borton Telephone No.: (41-22) 338.83.38
--	---





10/070966  
Translation  
SOCO

PATENT COOPERATION TREATY

PCT

7

INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

(PCT Article 36 and Rule 70)

Applicant's or agent's file reference JH/ml002053wo	FOR FURTHER ACTION	See Notification of Transmittal of International Preliminary Examination Report (Form PCT/IPEA/416)
International application No. PCT/EP00/08929	International filing date (day/month/year) 13 September 2000 (13.09.00)	Priority date (day/month/year) 13 September 1999 (13.09.99)
International Patent Classification (IPC) or national classification and IPC C12M 1/04		
Applicant HÖLKER, Udo		

1.	This international preliminary examination report has been prepared by this International Preliminary Examining Authority and is transmitted to the applicant according to Article 36.
2.	This REPORT consists of a total of <u>7</u> sheets, including this cover sheet.  <input checked="" type="checkbox"/> This report is also accompanied by ANNEXES, i.e., sheets of the description, claims and/or drawings which have been amended and are the basis for this report and/or sheets containing rectifications made before this Authority (see Rule 70.16 and Section 607 of the Administrative Instructions under the PCT).  These annexes consist of a total of <u>5</u> sheets.
3.	This report contains indications relating to the following items:  I <input checked="" type="checkbox"/> Basis of the report II <input type="checkbox"/> Priority III <input type="checkbox"/> Non-establishment of opinion with regard to novelty, inventive step and industrial applicability IV <input checked="" type="checkbox"/> Lack of unity of invention V <input checked="" type="checkbox"/> Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement VI <input type="checkbox"/> Certain documents cited VII <input checked="" type="checkbox"/> Certain defects in the international application VIII <input checked="" type="checkbox"/> Certain observations on the international application

Date of submission of the demand 06 February 2001 (06.02.01)	Date of completion of this report 08 November 2001 (08.11.2001)
Name and mailing address of the IPEA/EP  Facsimile No.	Authorized officer  Telephone No.



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/08929

## I. Basis of the report

### 1. With regard to the **elements** of the international application:\*

- ☐ the international application as originally filed
- ☒ the description:  
 pages 1-22, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☒ the claims:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, as amended (together with any statement under Article 19  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages 1-25, filed with the letter of 24 August 2001 (24.08.2001)
- ☒ the drawings:  
 pages 1/7-7/7, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_
- ☐ the sequence listing part of the description:  
 pages \_\_\_\_\_, as originally filed  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the demand  
 pages \_\_\_\_\_, filed with the letter of \_\_\_\_\_

### 2. With regard to the **language**, all the elements marked above were available or furnished to this Authority in the language in which the international application was filed, unless otherwise indicated under this item.

These elements were available or furnished to this Authority in the following language \_\_\_\_\_ which is:

- ☐ the language of a translation furnished for the purposes of international search (under Rule 23.1(b)).
- ☐ the language of publication of the international application (under Rule 48.3(b)).
- ☐ the language of the translation furnished for the purposes of international preliminary examination (under Rule 55.2 and/or 55.3).

### 3. With regard to any **nucleotide and/or amino acid sequence** disclosed in the international application, the international preliminary examination was carried out on the basis of the sequence listing:

- ☐ contained in the international application in written form.
- ☐ filed together with the international application in computer readable form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in written form.
- ☐ furnished subsequently to this Authority in computer readable form.
- ☐ The statement that the subsequently furnished written sequence listing does not go beyond the disclosure in the international application as filed has been furnished.
- ☐ The statement that the information recorded in computer readable form is identical to the written sequence listing has been furnished.

### 4. ☐ The amendments have resulted in the cancellation of:

- ☐ the description, pages
- ☐ the claims, Nos.
- ☐ the drawings, sheets/fig

### 5. ☐ This report has been established as if (some of) the amendments had not been made, since they have been considered to go beyond the disclosure as filed, as indicated in the Supplemental Box (Rule 70.2(c)).\*\*

\* Replacement sheets which have been furnished to the receiving Office in response to an invitation under Article 14 are referred to in this report as "originally filed" and are not annexed to this report since they do not contain amendments (Rule 70.16 and 70.17).

\*\* Any replacement sheet containing such amendments must be referred to under item 1 and annexed to this report.



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP00/08929

## IV. Lack of unity of invention

1. In response to the invitation to restrict or pay additional fees the applicant has:

- ☐ restricted the claims.
- ☐ paid additional fees.
- ☐ paid additional fees under protest.
- ☐ neither restricted nor paid additional fees.

2. ☒ This Authority found that the requirement of unity of invention is not complied with and chose, according to Rule 68.1, not to invite the applicant to restrict or pay additional fees.

3. This Authority considers that the requirement of unity of invention in accordance with Rules 13.1, 13.2 and 13.3 is

- ☐ complied with.
- ☒ not complied with for the following reasons:

See annexe

4. Consequently, the following parts of the international application were the subject of international preliminary examination in establishing this report:

- ☒ all parts.
- ☐ the parts relating to claims Nos. \_\_\_\_\_



# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/EP 00/08929

## Supplemental Box

(To be used when the space in any of the preceding boxes is not sufficient)

Continuation of: IV.3

The different inventions are:

Claims 1-17 and 25: bioreactor and method for the  
fermentation of solid substrates.

Claims 18-24: method for the aerobic fermentation  
of solids.

Said inventions are not so linked as to form a single  
general inventive concept (PCT Rule 13.1). The reasons  
are as follows:

From the wording of the independent Claim 18, it is not  
clear (i) whether the reaction medium is a solvent and  
(ii) whether the process is implemented in a bioreactor  
as per Claims 1-17. In consequence, the subject matter  
of the independent Claim 18 is not novel within the  
meaning of PCT Article 33(2). Therefore, inasmuch as  
there is no technical relationship between the subject  
matter of the independent Claims 1 and 18, involving one  
or more of the same or corresponding special technical  
features (PCT Rule 13.2), the required unity of invention  
is found to be lacking.





# INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/EP 00/08929

## V. Reasoned statement under Article 35(2) with regard to novelty, inventive step or industrial applicability; citations and explanations supporting such statement

### 1. Statement

Novelty (N)	Claims	1-17, 21-25	YES
	Claims	18-20	NO
Inventive step (IS)	Claims	1-17, 25	YES
	Claims	18-24	NO
Industrial applicability (IA)	Claims	1-25	YES
	Claims		NO

### 2. Citations and explanations

#### 1. Reference is made to the following documents:

D1: US-A-5 153 137

D2: AT-B-395 859

D3: AT-B-395 686.

#### 2. The subject matter of Claims 1-17 and 25 can be considered to be novel and to involve an inventive step (PCT Article 33(2) and (3)). The reasons are as follows:

D1, considered to be the closest prior art, discloses a bioreactor - see Figure 1 - with a fermentation tank 12, a feed-device 16 and a nozzle arrangement 24 and 26, which nozzle arrangement comprises a plurality of pipes 26 disposed in parallel projecting into the reaction chamber, and provided with nozzles - see Figure 3; column 2, lines 7-31 and 65-68; column 3, lines 1-35. All the pipes (including the first pipe) can be inserted into and withdrawn from the tank - see column 4, lines 5-15.

/...



D2 discloses a device (and a method) for the aerobic, microbiological decomposition of biological waste material, wherein a plurality of tubular gas feed pipes (lances) are inserted into an enclosed waste disposal unit (fermentation tank of the bioreactor) - page 2, lines 1-5, 41-44 and 51-60; page 3, lines 61-62; page 4, lines 1-10 and 37-43; Figure 1. After treatment of one sector of the disposal unit, the lances can (all) be removed and introduced into a new sector - see page 4, lines 49-51. D3 discloses a similar device for injecting oxygenic gas into a contaminated waste disposal unit - see page 2, lines 9-10 and 48-51; page 3, lines 1-35; page 4, lines 33-46; Figure 4.

The subject matter of Claim 1 differs from the closest prior art (D1) in that a second horizontal nozzle arrangement is provided, comprising at least two connected pipes running horizontal and mutually parallel through the reaction chamber, with each pipe having a plurality of nozzle orifices.

By the provision of an additional nozzle arrangement, it is possible to introduce a gaseous and a liquid medium simultaneously into the fermentation tank.

D1 contains no suggestion ~~of~~ providing a second nozzle arrangement. The devices from D2 to D3 have no horizontal nozzle arrangement.

From the disclosures of D1 to D3, the person skilled in the art would have derived neither the motivation

/...



to modify the bioreactor from D1 in such a way as to arrive at a bioreactor according to Claim 1 (and its dependent Claims 2-17), nor the technical basis for so doing.

The subject matter of the dependent Claim 25 relates to a method which is specifically adapted to the bioreactor according to Claim 1 and thus, for the same reason, is novel and involves an inventive step (PCT Article 33(2) and (3)).

3. D1 is prejudicial to the novelty of the subject matter of Claims 18-19. D2-D3 are prejudicial to the novelty of the subject matter of Claims 18-20 - see Box IV and point 2 above. In consequence, the subject matter of Claims 18-20 is not novel within the meaning of PCT Article 33(2).
4. In the light of the known prior art (D1-D3), the subject matter of the dependent Claims 21-24 is novel (PCT Article 33(2)), but does not involve an inventive step (PCT Article 33(3)) because the subject matter of said claims relates to an arbitrary selection of method steps that do not lead to a surprising technical effect.



INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.  
PCT/EP 00/08929

**VII. Certain defects in the international application**

The following defects in the form or contents of the international application have been noted:

Contrary to PCT Rule 5.1(a)(ii), the description does not cite D1-D3 or indicate the relevant prior art disclosed therein.





INTERNATIONAL PRELIMINARY EXAMINATION REPORT

International application No.

PCT/EP 00/08929

VIII. Certain observations on the international application

The following observations on the clarity of the claims, description, and drawings or on the question whether the claims are fully supported by the description, are made:

The description has not been brought into line with the claims.



# VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

## PCT

### INTERNATIONALER VORLÄUFIGER PRÜFUNGSBERICHT



(Artikel 36 und Regel 70 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts JH/ml002053wo	<b>WEITERES VORGEHEN</b> siehe Mitteilung über die Übersendung des internationalen vorläufigen Prüfungsberichts (Formblatt PCT/IPEA/416)	
Internationales Aktenzeichen PCT/EP00/08929	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr) 13/09/2000	Prioritätsdatum (Tag/Monat/Tag) 13/09/1999
Internationale Patentklassifikation (IPK) oder nationale Klassifikation und IPK C12M1/04		
Anmelder HÖLKER, Udo		

1. Dieser internationale vorläufige Prüfungsbericht wurde von der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 36 übermittelt.
2. Dieser BERICHT umfaßt insgesamt 7 Blätter einschließlich dieses Deckblatts.  
  
☒ Außerdem liegen dem Bericht ANLAGEN bei; dabei handelt es sich um Blätter mit Beschreibungen, Ansprüchen und/oder Zeichnungen, die geändert wurden und diesem Bericht zugrunde liegen, und/oder Blätter mit vor dieser Behörde vorgenommenen Berichtigungen (siehe Regel 70.16 und Abschnitt 607 der Verwaltungsrichtlinien zum PCT).  
  
Diese Anlagen umfassen insgesamt 5 Blätter.

3. Dieser Bericht enthält Angaben zu folgenden Punkten:

- I ☒ Grundlage des Berichts
- II ☐ Priorität
- III ☐ Keine Erstellung eines Gutachtens über Neuheit, erfinderische Tätigkeit und gewerbliche Anwendbarkeit
- IV ☒ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung
- V ☒ Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung
- VI ☐ Bestimmte angeführte Unterlagen
- VII ☒ Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung
- VIII ☒ Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung

Datum der Einreichung des Antrags  06/02/2001	Datum der Fertigstellung dieses Berichts  08.11.2001
Name und Postanschrift der mit der internationalen vorläufigen Prüfung beauftragten Behörde:   Europäisches Patentamt D-80298 München Tel. +49 89 2399 - 0 Tx: 523656 epmu d Fax: +49 89 2399 - 4465	Bevollmächtigter Bediensteter  Diez Schlereth, D  Tel. Nr. +49 89 2399 7488  



**I. Grundlage des Berichts**

1. Hinsichtlich der **Bestandteile** der internationalen Anmeldung (*Ersatzblätter, die dem Anmeldeamt auf eine Aufforderung nach Artikel 14 hin vorgelegt wurden, gelten im Rahmen dieses Berichts als "ursprünglich eingereicht" und sind ihm nicht beigelegt, weil sie keine Änderungen enthalten (Regeln 70.16 und 70.17)*):  
**Beschreibung, Seiten:**

1-22                      ursprüngliche Fassung

**Patentansprüche, Nr.:**

1-25                      eingegangen am                      24/08/2001    mit Schreiben vom    24/08/2001

**Zeichnungen, Blätter:**

1/7-7/7                      ursprüngliche Fassung

2. Hinsichtlich der **Sprache**: Alle vorstehend genannten Bestandteile standen der Behörde in der Sprache, in der die internationale Anmeldung eingereicht worden ist, zur Verfügung oder wurden in dieser eingereicht, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.

Die Bestandteile standen der Behörde in der Sprache: zur Verfügung bzw. wurden in dieser Sprache eingereicht; dabei handelt es sich um

- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen Recherche eingereicht worden ist (nach Regel 23.1(b)).
- ☐ die Veröffentlichungssprache der internationalen Anmeldung (nach Regel 48.3(b)).
- ☐ die Sprache der Übersetzung, die für die Zwecke der internationalen vorläufigen Prüfung eingereicht worden ist (nach Regel 55.2 und/oder 55.3).

3. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale vorläufige Prüfung auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das:

- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfassten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

4. Aufgrund der Änderungen sind folgende Unterlagen fortgefallen:



- ☐ Beschreibung,      Seiten:  
☐ Ansprüche,      Nr.:  
☐ Zeichnungen,      Blatt:

5. ☐ Dieser Bericht ist ohne Berücksichtigung (von einigen) der Änderungen erstellt worden, da diese aus den angegebenen Gründen nach Auffassung der Behörde über den Offenbarungsgehalt in der ursprünglich eingereichten Fassung hinausgehen (Regel 70.2(c)).

*(Auf Ersatzblätter, die solche Änderungen enthalten, ist unter Punkt 1 hinzuweisen; sie sind diesem Bericht beizufügen).*

6. Etwaige zusätzliche Bemerkungen:

**IV. Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung**

1. Auf die Aufforderung zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren hat der Anmelder:

- ☐ die Ansprüche eingeschränkt.  
☐ zusätzliche Gebühren entrichtet.  
☐ zusätzliche Gebühren unter Widerspruch entrichtet.  
☐ weder die Ansprüche eingeschränkt noch zusätzliche Gebühren entrichtet.

2. ☒ Die Behörde hat festgestellt, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nicht erfüllt ist, und hat gemäß Regel 68.1 beschlossen, den Anmelder nicht zur Einschränkung der Ansprüche oder zur Zahlung zusätzlicher Gebühren aufzufordern.

3. Die Behörde ist der Auffassung, daß das Erfordernis der Einheitlichkeit der Erfindung nach den Regeln 13.1, 13.2 und 13.3

- ☐ erfüllt ist  
☒ aus folgenden Gründen nicht erfüllt ist:  
**siehe Beiblatt**

4. Daher wurde zur Erstellung dieses Berichts eine internationale vorläufige Prüfung für folgende Teile der internationalen Anmeldung durchgeführt:

- ☒ alle Teile.  
☐ die Teile, die sich auf die Ansprüche Nr. beziehen.

**V. Begründete Feststellung nach Artikel 35(2) hinsichtlich der Neuheit, der erfinderischen Tätigkeit und der gewerblichen Anwendbarkeit; Unterlagen und Erklärungen zur Stützung dieser Feststellung**





1. Feststellung

Neuheit (N)	Ja: Ansprüche	1-17,21-25
	Nein: Ansprüche	18-20
Erfinderische Tätigkeit (ET)	Ja: Ansprüche	1-17,25
	Nein: Ansprüche	18-24
Gewerbliche Anwendbarkeit (GA)	Ja: Ansprüche	1-25
	Nein: Ansprüche	

2. Unterlagen und Erklärungen  
siehe Beiblatt

**VII. Bestimmte Mängel der internationalen Anmeldung**

Es wurde festgestellt, daß die internationale Anmeldung nach Form oder Inhalt folgende Mängel aufweist:  
siehe Beiblatt

**VIII. Bestimmte Bemerkungen zur internationalen Anmeldung**

Zur Klarheit der Patentansprüche, der Beschreibung und der Zeichnungen oder zu der Frage, ob die Ansprüche in vollem Umfang durch die Beschreibung gestützt werden, ist folgendes zu bemerken:  
siehe Beiblatt



**Zu Punkt IV**

Die verschiedenen Erfindungen sind:

Ansprüche 1-17, 25: Bioreaktor und Verfahren zur Fermentierung fester Substrate.

Ansprüche 18-24: Verfahren zur aeroben Fermentierung fester Stoffe.

Diese Erfindungen hängen aus folgenden Gründen nicht so zusammen, daß sie eine einzige allgemeine erfinderische Idee im Sinne der Regel 13.1 (PCT) verwirklichen.

Aus dem Wortlaut des unabhängigen Anspruchs 18 ist nicht klar, ob (i) das Reaktionsmedium ein Lösungsmittel ist und ob (ii) das Verfahren in einem Bioreaktor gemäß Ansprüche 1-17 erfolgt. Darum ist der Gegenstand des unabhängigen Anspruchs 18, nicht neu im Sinne des Art. 33 (2) PCT. Die erforderliche Einheitlichkeit der Erfindung ist damit insofern nicht mehr gegeben, als zwischen den Gegenständen der unabhängigen Ansprüche 1 und 18 kein technischer Zusammenhang im Sinne der Regel 13.2 (PCT) besteht, der in einem oder mehreren gleichen oder entsprechenden besonderen technischen Merkmalen zum Ausdruck kommt.

**Zu Punkt V**

1.) Es wird auf die folgenden Dokumente verwiesen:

D1: US-A-5,153,137

D2: AT-B-395 859

D3: AT-B-395 686

2.) Der Gegenstand der Ansprüche 1-17 und 25 ist aus folgenden Gründen als neu und erfinderisch im Sinne der Art. 33 (2) und (3) PCT zu betrachten:

D1, das als nächstliegender Stand der Technik angesehen wird, offenbart einen Bioreaktor (siehe Abb. 1), mit einem Fermentationsbehälter (12), einer Zugabeeinrichtung (16) und einer Düsenanordnung (24,26), wobei die Düsenanordnung eine Vielzahl von parallel in den Reaktionsraum hineinragende und mit Düsen versehene Leitungsrohre (26) aufweist (siehe Abb. 3; Sp. 2, Z. 7-31, 65-68;



Sp. 3, Z. 1-35). Alle Leitungsrohre (somit auch das erste Leitungsrohr) können in den/aus dem Behälter hinein/herausgeführt werden (Sp. 4, Z. 5-15).

D2 offenbart eine Vorrichtung (und ein Verfahren) zum aeroben mikrobiologischen Abbau von biologischen Abfallstoffen, bei der eine Vielzahl von rohrartigen Gaszufuhrleitungen (Lanzen) in eine abgegrenzte Mülldeponie (Fermentationsbehälter des Bioreaktors) hingeführt werden (S. 2, Z. 1-5, 41-44, 51-60; S. 3, Z. 61-62; S. 4, Z. 1-10, 37-43; Abb. 1). Nach der Behandlung eines Feldes der Deponie können die Lanzen (alle) versetzt werden und in ein neues Feld übergeführt werden (S. 4, Z. 49-51). D3 offenbart eine ähnliche Vorrichtung zum Injizieren sauerstoffhaltiger Gase in eine kontaminierte Mülldeponie (S. 2, Z. 9-10, 48-51; s. 3, Z. 1-35; S. 4, Z. 33-46; Abb. 4).

Der Gegenstand des Anspruchs 1 unterscheidet sich vom nächstliegenden Stand der Technik (D1) dadurch, daß eine zweite horizontale Düsenanordnung mit mindestens zwei sich horizontal und zu einander parallel durch den Reaktionsraum erstreckenden mit einander verbundenen Leitungsrohren vorgesehen ist, wobei die Leitungsrohre jeweils eine Vielzahl von Düsenöffnungen aufweisen.

Durch das Vorsehen einer zusätzlichen zweiten Düsenanordnung ist es möglich gasförmiges Medium und flüssiges Medium gleichzeitig in den Fermentationsbehälter einzubringen.

D1 enthält keinen Hinweis eine zweite Düsenanordnung vorzusehen. Die Vorrichtungen aus D2-D3 weisen keine horizontale Düsenanordnung auf.

Angesichts der Offenbarungen von D1-D3 hätte der Fachmann keine Motivation und keine technische Grundlage gehabt, den Bioreaktor aus D1 so zu modifizieren um zu einem Bioreaktor gemäß Anspruch 1 (und 2-17 als abhängig davon) zu gelangen.

Der Gegenstand des abhängigen Anspruchs 25 bezieht sich auf ein Verfahren, welches dem Bioreaktor nach Anspruch 1 speziell angepaßt ist und somit ist aus analogen Gründen als neu und erfinderisch (Art. 33 (2) und (3) PCT) zu betrachten.

3.) D1 steht dem Gegenstand der Ansprüche 18-19 neuheitschädlich entgegen. D2-D3



stehen dem Gegenstand der Ansprüche 18-20 neuheitschädlich entgegen (siehe Punkte IV. und V.2. oben). Daher ist der Gegenstand der Ansprüche 18-20 nicht neu im Sinne des Art. 33 (2) PCT.

4.) Im Lichte des bekannten Stands der Technik (D1-D3) ist der Gegenstand der abhängigen Ansprüche 21-24 neu (Art. 33 (2) PCT), aber nicht erfinderisch (Art. 33 (3) PCT), weil der Gegenstand dieser Ansprüche sich auf eine willkürliche Auswahl von Verfahrensschritten bezieht, die zu keinem überraschenden technischen Effekt führen.

#### **Zu Punkt VII**

Im Widerspruch zu den Erfordernissen der Regel 5.1 (a) (ii) PCT werden in der Beschreibung weder der in den Dokumenten D1-D3 offenbarte einschlägige Stand der Technik noch diese Dokumente angegeben.

#### **Zu Punkt VIII**

Die Beschreibung ist nicht an die Patentansprüche angepaßt worden.





PCT/EP00/08929

JH/KB/ml

Udo Hölker

24. August 2001

**Patentansprüche**

1. Bioreaktor zur Fermentierung fester Substrate mit einem Fermentationsbehälter (2), einer Zugabeeinrichtung für bioreaktive Stoffe und einer Düsenanordnung in dem Fermentationsbehälter (2) zur Belüftung und Durchmischung der Substrate, wobei die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) eine Vielzahl von parallel in den Reaktionsraum (49) des Fermentationsbehälters (2) hineinragende und mit Düsen (16,28) versehenen Leitungsrohren (14,24) aufweist, wobei eine erste, sich vertikal erstreckende Düsenanordnung (10) in den Reaktionsraum (49) des Fermentationsbehälters (2) ein- und ausfahrbar ist, gekennzeichnet durch eine zweite horizontale Düsenanordnung (20) aus mindestens zwei sich horizontal und zueinander parallel durch den Reaktionsraum (49) erstreckenden, miteinander verbundenen Leitungsrohren (24), die jeweils eine Vielzahl von Düsenöffnungen (28) aufweisen.

2. Bioreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass die horizontale Düsenanordnung (20) um eine horizontale Drehachse drehbar ist.

3. Bioreaktor nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass der Fermentationsbehälter (2) einen im Querschnitt sich verjüngenden Bodenabschnitt (32) aufweist.

4. Bioreaktor nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, dass der konisch gestaltete Bodenabschnitt (32) in einer zur Horizontalen schräg verlaufenden Ablaufrinne (36) mündet, die an der tiefsten Stelle ein Ablaufventil (40) aufweist.



5. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) Druckgas (48) aus einem Druckbehälter (44,46) erhält.

6. Bioreaktor nach Anspruch 5, dadurch gekennzeichnet, dass in dem Druckbehälter (44,46) außer dem Druckgas (48) ein bioreaktiver flüssiger Stoff (50) enthalten ist.

7. Bioreaktor nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) alternativ Druckluft (48) oder den flüssigen bioreaktiven Stoff (50) aus dem Druckbehälter (44,46) erhält.

8. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) mit pulsierender Druckluft (48) beaufschlagbar ist.

9. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die zweite Düsenanordnung (20) höhenverstellbar in dem Fermentationsbehälter (2) angeordnet ist.

10. Bioreaktor nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass mehrere mit Druckluft (48) beaufschlagte und mit einem Mischbehälter (46) verbundene Druckbehälter (52,54,56,58,60) vorgesehen sind, die unterschiedliche flüssige bioreaktive Stoffe enthalten.

11. Bioreaktor nach Anspruch 10, dadurch gekennzeichnet, dass der Mischbehälter (46) eine Druckausgleichseinrichtung (47) aufweist.

12. Bioreaktor nach Anspruch 10 oder 11, dadurch gekennzeichnet, dass die Druckbehälter (52,54,56,58,60) austauschbar und getrennt voneinander autoklavierbar sind.



13. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 4 bis 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Ablaufrinne (36) mit einem Maschennetz (38) abgedeckt ist.

14. Bioreaktor nach einem der oder mehreren der Ansprüche 1 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass ein Druckdeckel (8) des Fermentationsbehälters (2) die erste Düsenanordnung (10) aufnimmt, deren Leitungsrohre (24) vertikal von dem Druckdeckel (8) in den Reaktionsraum (49) hineinragen.

15. Bioreaktor nach Anspruch 14, dadurch gekennzeichnet, dass die vertikalen Leitungsrohre (14) der ersten Düsenanordnung (10) austauschbar in dem Druckdeckel (8) angeordnet sind.

16. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, dass der Fermentationsbehälter (2) über eine Zuführleitung (74) mit einer Messkammer (72) und diese über eine Rückführleitung (84) mit dem Fermentationsbehälter (2) verbunden ist, und dass die Messkammer (72) zum Zurückführen von gemessenem Medium mit Druck beaufschlagbar ist.

17. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass eine Vorrichtung zum Wärmeaustausch vorgesehen ist, insbesondere mit einer Vorrichtung,

(i) in der der Fermentationsbehälter (2) doppelwandig ist und der so gebildete Hohlraum (51a) über ein Anschlussrohr (51b) und einem Abflussrohr (51c) mit temperierter Wärmetauschflüssigkeiten durchströmbar ist und/oder

(ii) die ein horizontales Rohrsystem (20) in den Fermentationsbehälter (2) ist, die mit temperierbarer Wärmeaustauschflüssigkeit durchströmbar ist.



18. Verfahren zur aeroben Fermentierung fester Stoffe, wobei ein diese festen Stoffe enthaltendes Reaktionsmedium durch von oben in das Reaktionsmedium zugeführtes Druckgas (48) durchmischt wird.

19. Verfahren nach Anspruch 18, wobei das Durchmischen durch einen kontinuierlichen Druckgasstrom oder durch Druckgaspulse erfolgt.

20. Verfahren nach Anspruch 18 oder 19, wobei die festen Stoffe ausgewählt sind aus Kohle, Holz und belasteten Böden.

21. Verfahren nach Anspruch 20, wobei der feste Stoff Kohle und insbesondere Braunkohle ist.

22. Verfahren nach Anspruch 21, wobei dem Reaktionsgemisch weiterhin ein zur Fermentation geeigneter Mikroorganismus, Nährstoffe und/oder Puffer zugegeben werden.

23. Verfahren nach Anspruch 21, wobei die Braunkohle oder das Braunkohle enthaltende Reaktionsmedium samt Bioreaktor vor der Fermentation oder der Zugabe des Mikroorganismus tyndalisiert wird.

24. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 21 bis 23, wobei

(i) die Braunkohle eine Partikelgrößen von 1 bis 10 mm aufweist;

(ii) der Mikroorganismus ausgewählt ist aus Schimmelpilzen, Hefen und Weißfäulepilzen und insbesondere *Trichoderma atroviride* ist;

(iii) der pH des Reaktionsmediums bei Reaktionsbeginn von 5.5 bis 6.0 beträgt;

(iv) der pH während der Solubilisierungsphase auf 6.5 bis 7.2 gehalten wird;

(v) die Fermentation bei einer Temperatur von 25 °C bis 30 °C erfolgt und/oder

(vi) 1 bis 25 l Druckluft pro l Fermentationslösung pro Tag durch das Reaktionsmedium geleitet werden.





25. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 18 bis 24, wobei die Reaktion in einem wie in Ansprüchen 1 bis 17 definierten Bioreaktor (1) erfolgt.



(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
22. März 2001 (22.03.2001)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 01/19954 A1**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: C12M 1/04,  
B09B 3/00

(71) Anmelder und  
(72) Erfinder: HÖLKER, Udo [DE/DE]; Rotdornstr. 2,  
D-53639 Königswinter-Rauschendorf (DE).

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP00/08929

(74) Anwälte: HELBING, Jörg usw.; Von Kreisler Selting  
Werner, Postfach 10 22 41, D-50462 Köln (DE).

(22) Internationales Anmeldedatum:  
13. September 2000 (13.09.2000)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(81) Bestimmungsstaaten (*national*): AE, AG, AL, AM, AT,  
AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BY, BZ, CA, CH, CN, CR, CU,  
CZ, DE, DK, DM, DZ, EE, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM,  
HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK,  
LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX,  
MZ, NO, NZ, PL, PT, RO, RU, SD, SE, SG, SI, SK, SL,  
TJ, TM, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VN, YU, ZA, ZW.

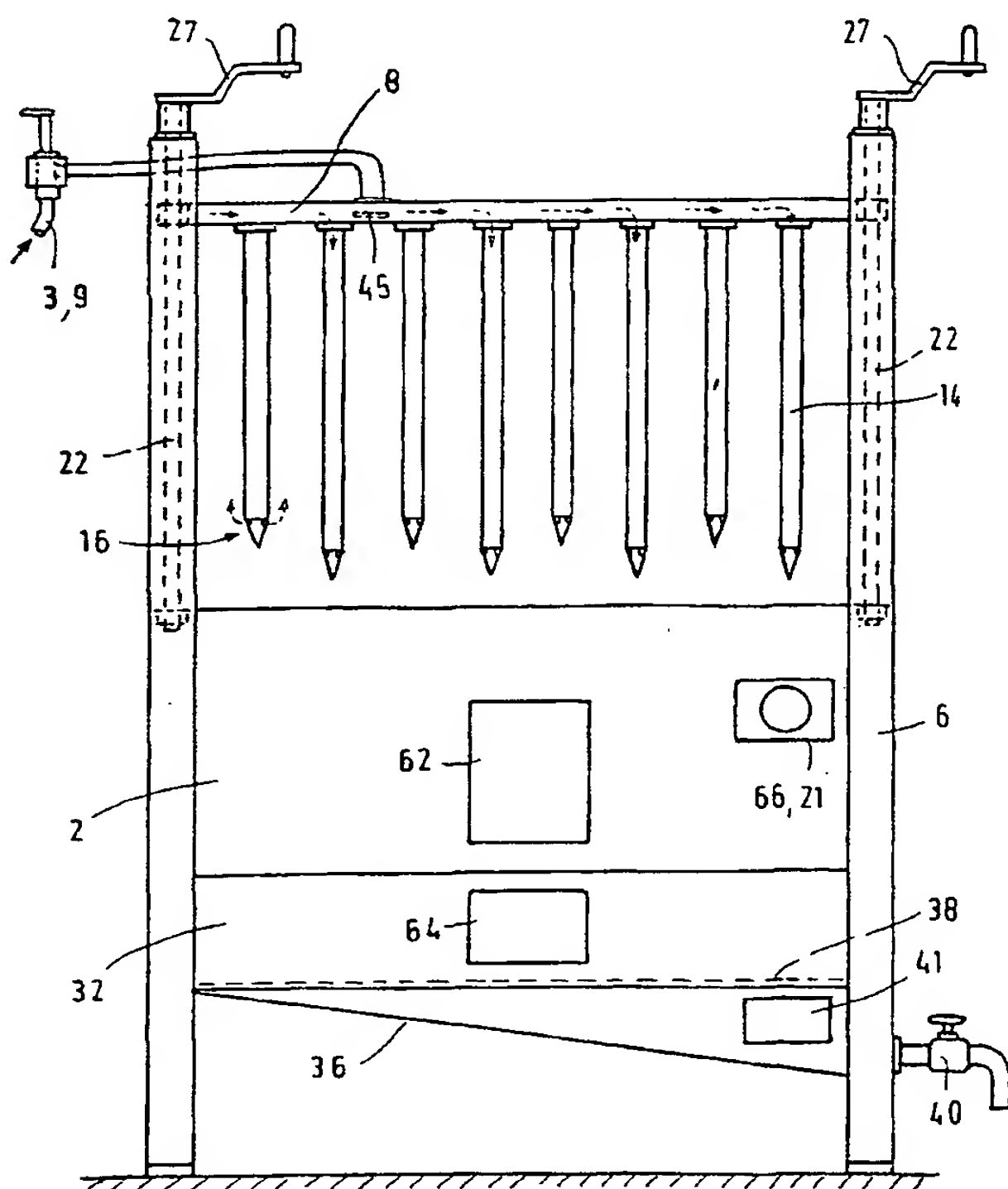
(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
199 43 853.6 13. September 1999 (13.09.1999) DE

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: BIOREACTOR FOR FERMENTING SOLIDS

(54) Bezeichnung: BIOREAKTOR ZUR FERMENTIERUNG VON FESTEN STOFFEN



(57) Abstract: The invention relates to a bioreactor for fermenting solid substrates, comprising a fermentation vessel (2), a device for feeding bioreactive substances and a nozzle arrangement in the fermentation vessel (2). The invention is characterized in that a nozzle arrangement (10, 20) consisting of a plurality of pipes (14, 24) which project into the reaction chamber (49) of the fermentation vessel (2) in parallel and which are provided with nozzles (16, 28) is situated in the fermentation vessel (2). The invention also relates to a method for aerobically fermenting solids. A reaction medium containing these solids is mixed using a compressed gas (48) which is guided into the reaction mixture from above.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft einen Bioreaktor zur Fermentierung fester Substrate mit einem Fermentationsbehälter (2), einer Zugabeeinrichtung für bioreaktive Stoffe und einer Düsenanordnung in dem Fermentationsbehälter (2), dadurch gekennzeichnet, dass eine Düsenanordnung (10, 20) aus einer Vielzahl von parallel in den Reaktionsraum (49) des Fermentationsbehälters (2) hineinragenden und mit Düsen (16, 28) versehenen Leitungsrohren (14, 24) in dem Fermentationsbehälter (2) angeordnet ist. Die Erfindung betrifft weiterhin ein Verfahren zur aeroben Fermentierung fester Stoffe, wobei ein diese festen Stoffe enthaltendes Reaktionsmedium durch von oben in das Reaktionsgemisch zugeführtes Druckgas (48) durchmischt wird.

WO 01/19954 A1



(84) **Bestimmungsstaaten** (*regional*): ARIPO-Patent (GH, GM, KE, LS, MW, MZ, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZW), eurasisches Patent (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), OAPI-Patent (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

**Veröffentlicht:**

— Mit internationalem Recherchenbericht.

— Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche geltenden Frist: Veröffentlichung wird wiederholt, falls Änderungen eintreffen.

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes, und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

## **Bioreaktor zur Fermentierung von festen Stoffen**

Die vorliegende Erfindung betrifft einen Bioreaktor zur Fermentierung fester Stoffe sowie ein entsprechendes Fermentationsverfahren.

Der Umsatz von festen, wasserunlöslichen oder partikulären Substraten in Fermentern birgt eine Vielzahl an Problemen, welche in erster Linie die Belüftung, die Durchmischung und die Nährmedienzugabe betreffen. Wenn der umzusetzende Stoff von verschiedenen Mikroorganismen synergistisch angegriffen werden soll, ist zudem eine gezielte Versorgung des Reaktionsraums mit Nährstoffen und Sauerstoff erforderlich. In großvolumigen Reaktoren lassen sich diese Fermentationen derzeit aufgrund der erschwerten Durchmischung und der damit verbundenen mangelhaften Belüftung und Unterversorgung mit Substraten, nicht realisieren.

Die Durchmischung findet in handelsüblichen Reaktorsystemen durch mechanische Rührsysteme statt. Darüber hinaus beschreibt das US-Patent 4,846,964 ein Fließbett-Bioreaktorsystem zur Umwandlung von Kohle in mikrobiologisch verflüssigte Kohleprodukte, bei dem ein aufstrebender wäßriger Strom die Kohlepartikel in Lösung hält. Die vorstehenden Mischmethoden haben den Nachteil, dass bei einer Fermentation von höheren Substratkonzentrationen bzw. Substraten, die zur Verklumpung neigen, eine hinreichende Durchmischung und somit ein hoher Substratumsatz nicht mehr gegeben ist.

Die Aufgabe der vorliegenden Erfindung bestand nun darin, einen Bioreaktor und ein Fermentationsverfahren zur Verfügung zu stellen, die die Nachteile des Standes der Technik nicht mehr aufweisen, insbesondere

die eine hinreichende Durchmischung des zu fermentierenden Materials gewährleisten.

Überraschenderweise wurde nun gefunden, dass in einem Bioreaktor durch gezieltes Einleiten von Druckgas, kontinuierlich oder durch Druckgaspulse, eine hinreichende Durchmischung eines Reaktionsmediums, das feste bzw. wasserunlösliche Fermentationsstoffe enthält, gegeben ist.

Zur Lösung der gestellten Aufgabe dienen ein Bioreaktor mit den Merkmalen des Anspruchs 1 sowie ein Verfahren zur aeroben Fermentierung mit den Merkmalen des Anspruchs 19.

Der Bioreaktor dient zur Fermentierung wasserunlöslicher oder partikulärer Substrate wie z. B. Holz (welches aufgrund seines Ligninanteils nur von bestimmten Mikroorganismen abbaubar ist), Kohlen (mit dem Ziel, die flüssigen Fermentationsprodukte als Ausgangsstoffe für die chemische Industrie oder zur thermischen Nutzung zu verwenden), zur Sanierung von mit Xenobiotika belasteten Böden, zur schnellen Fermentierung von organischen Abfallprodukten, zur biologischen Abwasserreinigung und zur Vorbehandlung von Grundstoffen der chemischen Industrie.

Der vorgeschlagene Bioreaktor erlaubt durch mindestens eine spezielle Düsenanordnung, welche in das zu fermentierende Substrat eingebracht wird und pneumatisch mit Druckgas versorgt wird, erstmals die für Mikroorganismen nötige optimale Belüftung und Durchmischung von festen, wasserunlöslichen oder partikulären Substraten. Sowohl die Versorgung der Mikroorganismen mit Luftsauerstoff als auch deren Versorgung mit Nährmedien, Co-Substraten, Vitaminen, Mineralstoffen, Puffern oder Antibiotika verläuft über ein einzelnes pneumatisches Drucksystem. Der Bioreaktor kann in leicht modifizierter Form in jeder beliebigen Größe vom fünf Liter Labormaßstab bis hin zum großindustriellen mehrstelligen Hektoliterbereich genutzt werden. Der vorgeschlagene Bioreaktor kann mit

einfachen Veränderungen ebenfalls als konventioneller Flüssig-/Festphasen-, Festphasen-, Rieselfilm-, "fedbatch" oder Airliftreaktor genutzt werden.

Erfindungsgemäß ist eine erste, sich vertikal erstreckende Düsenanordnung in den Reaktionsraum des Fermentationsbehälters ein- und ausfahrbar. Die Düsenanordnung ist somit in vertikaler Richtung verschiebbar, sodass es auch möglich ist, die Düsenanordnung, während sie mit Druckgas beaufschlagt ist, zur besseren Durchmischung und Belüftung zu bewegen. Falls der Fermentationsvorgang jedoch unter sterilen Bedingungen ablaufen soll, ist es unumgänglich, dass der Reaktionsraum geschlossen bleibt. Die Düsenanordnung besteht aus vertikal in den Fermentationsbehälter hineinragenden Leitungsrohren, die an ihren unteren Enden mit Düsen versehen sind. Auf diese Weise lässt sich das Druckgas bzw. der flüssige bioreaktive Stoff in Bodennähe des Fermentationsbehälters einbringen. Die Düsenanordnung ist auch zum Penetrieren von in der Fermentationslösung befindlichen körnigen Feststoffen geeignet. Die vertikalen Leitungsrohre können eine unterschiedliche Länge aufweisen und sind auswechselbar. Ferner kann die Düsenanordnung, wenn sie aus dem Fermentationsbehälter herausgezogen ist auf einfache Weise gereinigt werden.

Zusätzlich kann eine zweite horizontale Düsenanordnung vorgesehen sein, die aus sich horizontal und zueinander parallel durch den Reaktionsraum erstreckenden, miteinander verbundenen Leitungsrohren besteht. Die Leitungsrohre haben auf ihrer Mantelfläche verteilt angeordnete Düsen.

Die horizontale Düsenanordnung kann zusätzlich zu der vertikalen Düsenanordnung zum Durchmischen verwendet werden.

Falls die horizontale Düsenanordnung zum besseren Durchmischen des Fermentationsstoffes rotieren soll, muss die vertikale Düsenanordnung



nach oben gefahren werden oder die vertikalen Leitungsrohre müssen so gewählt werden, dass sie ein Rotieren der horizontalen Düsenanordnung nicht behindern, d. h., die "normalen" Leitungsrohre müssen durch kürzere Leitungsrohre ersetzt werden.

Eine vorteilhafte Weiterbildung des erfindungsgemäßen Bioreaktors weist eine Messvorrichtung auf, in der in einer Messkammer beispielsweise mehrere Messelektroden zum Messen eines aus dem Fermentationsbehälter entnommenen Mediums vorgesehen sind. Die Messkammer ist über eine Zufuhrleitung mit dem Fermentationsbehälter, zum Zuführen von zu messendem Medium aus dem Fermentationsbehälter in die Messkammer, verbunden. Um das Medium nach dem Messen wieder in den Fermentationsbehälter zurückzuführen ist die Messkammer ferner über eine Rückführleitung mit dem Fermentationsbehälter verbunden. Das Besondere dieser Anordnung ist, dass der Messkammer eine Druckkammer vorgeschaltet ist, in der sich ein definierbarer Druck aufbauen kann, der dem verdrängten Volumen in der Messkammer entspricht. Das Rückführen des gemessenen Mediums erfolgt erfindungsgemäß dadurch, dass die Messkammer mit Druck beaufschlagt wird, so dass das Medium in den Fermentationsbehälter zurückgedrückt wird.

Bei bekannten Bioreaktoren erfolgen Messungen üblicherweise direkt in dem Fermentationsbehälter. Da in dem Fermentationsbehälter feste Substrate enthalten sind, werden die Messelektroden häufig beschädigt. Bei einer externen Messung wird das zu messende Medium bei bekannten Bioreaktoren durch peristaltische Pumpen in eine Messkammer gefördert. Derartige Pumpen unterliegen hohem Verschleiß und sind zur Förderung größerer Volumina nicht geeignet.

Durch das erfindungsgemäße Fördern des Mediums mit Druck können derartige verschleißbehaftete und damit wartungsintensive Pumpen entfallen. Ferner ist es möglich große Volumina zu fördern. Ein weiterer Vor-



teil der Förderung mittels Druck ist, dass die Sterilität nicht beeinflusst wird. Dies bedeutet, dass beim Pumpvorgang keine Fremdstoffe in den Fermentationsbehälter gelangen.

Die Zufuhr von Medium über die Zuführleitung in die Messkammer kann durch Unterdruck erfolgen. Die erfindungsgemäße Messkammer kann ferner als zusätzliches Umwälzsystem genutzt werden. Mit einem derartigen Umwälzsystem kann eine zusätzliche Belüftung der in dem Fermentationsbehälter befindlichen Substrate erfolgen.

Weitere vorteilhafte Ausbildungen des Bioreaktors sind den weiteren Unteransprüchen zu entnehmen.

In dem erfindungsgemäßen Verfahren wird zur aeroben Fermentierung fester Stoffe ein diese feste Stoffe enthaltendes Reaktionsmedium durch von oben in das Reaktionsmedium zugeführtes Druckgas durchmischt. Durch diese Durchmischung wird die Fermentationsrate drastisch gesteigert. Im Sinne der vorliegenden Erfindung bedeutet "von oben in das Reaktionsmedium zuführen", dass Druckgas mittels geeigneter Vorrichtungen (wie mit Düsen versehenen Leitungsrohren), die von oben in das Reaktionsmedium hineinreichen, in das Reaktionsmedium geleitet werden. Die Länge der Leitungsrohre kann dabei so gewählt werden, dass sie im eingeführten Arbeitszustand (d. h. mit oder ohne eingeführtes Druckgas) in beliebiger Höhe unter die Oberfläche des Reaktionsmediums reichen.

Die Erfindung wird nachfolgend anhand der Figuren und Ausführungsbeispiele näher beschrieben. Dabei zeigt

Fig. 1 einen Bioreaktor mit einem Druckbehälter für bioreaktive Stoffe und für Druckluft,



Fig. 2 eine Stirnansicht des Bioreaktors,

Fig. 3 eine Seitenansicht des Bioreaktors,

Fig. 4 einen Schnitt durch den Fermentationsbehälter des Bioreaktors,

Fig. 5 einen Schnitt entlang der Linie V-V in Fig. 4,

Fig. 6 eine Medienmisch- und Druckluftzuleitungsanordnung für den Bioreaktor,

Fig. 7 eine schematische Ansicht einer mit dem Fermentationsbehälter verbundenen Messeinrichtung, und

Fig. 8 den Reaktionsverlauf des in Beispiel 1 beschriebenen Fermentationsansatzes.

Der in Fig. 1 gezeigte Bioreaktor zur Fermentierung fester Stoffe und zur Durchführung eines nachfolgend näher beschriebenen Fermentationsverfahrens weist einen Fermentationsbehälter 2 auf, der mit einem Druckdeckel 8 druckdicht verschließbar ist.

Der Fermentationsbehälter 2 ist mit mindestens einer in den Reaktorraum 49 reichenden Düsenanordnung 10, 20 versehen, die über einen Druckbehälter 44, über eine Druckgasleitung 3 für eine vertikale Düsenanordnung 10 bzw. über eine Druckgasleitung 4 für eine horizontale Düsenanordnung 20 mit Druckluft 48 versorgt wird.

Der Druckbehälter 44 enthält zusätzlich einen bioreaktiven flüssigen Stoff 50, der über ein Absperrventil 7 und eine Druckleitung 5 der horizontalen Düsenanordnung 20 und/oder eine Druckleitung 9 der vertikalen Düsenanordnung 10 zugeführt werden kann.

Die vertikale Düsenanordnung 10 und/oder die horizontale Düsenanordnung 20 kann demzufolge auch als Zugabeeinrichtung für bioreaktive Stoffe alternativ zur Druckgasbeaufschlagung verwendet werden.

Am Boden des Druckbehälters 44 befindet sich eine Ablaufleitung 11 mit einem Absperrventil 12. Am oberen Ende des Druckbehälters 44 ist eine Zuführleitung 13 für die Zufuhr bioreaktiver Stoffe 50 sowie ein Absperrventil 15 angeordnet.

Das Druckgas 48, z.B. Druckluft, wird über eine Zuführleitung 17 und ein Absperrventil 18 zugeführt.

Seitlich neben dem Druckbehälter 44 ist ein Steigrohr 19 angeordnet.

Der Fermentationsbehälter 2 weist des weiteren eine Druckausgleichseinrichtung 21 mit einem Absperrventil auf. Am Boden des Fermentationsbehälters 2 ist unterhalb eines konischen Bodenabschnitts 32 (Fig. 2) eine Ablaufrinne 36 vorgesehen, die mit einem Maschennetz 38 abgedeckt ist, so dass in dem Fermentationsbehälter 2 enthaltene Flüssigkeit vor ihrem Ablauf in die Ablaufrinne 36 grob gefiltert wird. Der Boden der Ablaufrinne 36 verläuft schräg zur Horizontalen, wobei an der Stirnseite 51 des Fermentationsbehälters an der tiefsten Stelle der Ablaufrinne 36 ein Ablaufventil 40 vorgesehen ist.

An der Stirnseite 51 des Fermentationsbehälters 2 befindet sich eine abnehmbare Klappe 53, um den Innenraum und das Maschennetz 38 reinigen zu können, ohne die den Reaktorraum 49 abschließende Deckplatte 8 öffnen zu müssen. An der Ablaufrinne 36 sind gegenüberliegend zwei Fenster 41 angebracht, die es ermöglichen mit einem optischen Sensor die optische Dichte des fermentierten Stoffes zu bestimmen (Fig. 3). Zusätzlich an den Seitenwänden angebrachte Fenster 62,64 ermöglichen

eine visuelle Kontrolle der Fermentationsbedingungen, sie sind jedoch nicht obligatorisch.

Anstelle von oder zusätzlich zu einer nachfolgend beschriebenen externen Messkammer 72 kann an einer Seite des Fermentationsbehälters 2 eine abdichtbare Einrichtung 66 für regeltechnische Elektroden (z. B. pH, O<sub>2</sub>-Partialdruck, Leitfähigkeit, Ionenspezifizität, usw.) sowie eine Druckausgleichseinrichtung 21 für den kontrollierten Ablass von Luft oder während der Fermentation entstehender Gase aus dem Fermentationsbehälter 2 angebracht sein.

Alle mit Medium oder Gasen in Kontakt kommenden Komponenten sind unabhängig voneinander autoklavierbar.

Der erfindungsgemäße Bioreaktor kann weiterhin Vorrichtungen zum Wärmeaustausch, d. h. Heizen und Kühlen aufweisen. Hierzu kann der Fermentationsbehälter 2 doppelwandig sein, so dass ein Hohlraum 51a ausgebildet ist. Dieser ist zwischen der inneren und äußeren Wand des Behälters 2 ausgebildet. Der Hohlraum 51a ist über ein Anschlussrohr 51b und Abflussrohr 51c, beispielsweise mit einem entsprechend temperierten Wärmetauschflüssigkeitsreservoir (z. B. Wasser- oder Ölreservoir) verbunden. Das Wasser oder Öl das durch einen externen Thermostaten eine definierte Temperatur aufweist, umströmt den Behälter 2. Durch diese Vorrichtung kann der Bioreaktor in einem Temperaturbereich von 10 bis 90°C stufenlos betrieben werden, wodurch zum Einen die für verschiedene Mikroorganismen optimale Temperatur im Bioreaktor eingestellt, und zum anderen der gesamte Bioreaktor samt Inhalt schonend sterilisiert bzw. tyndalisiert werden kann. Eine solche Sterilisierung/Tyndalisierung eines gesamten Bioreaktors in einem integrierten System, das als solches noch nicht beschrieben wurde, birgt deshalb deutlich Vorteile bei Anwendung des Systems.

Wie aus den Fig. 2 und 3 ersichtlich, wird der Fermentationsbehälter 2 von einem Gestell 6 gehalten. Das Gestell 6 nimmt auch zwei Spindeln 22 auf, mit deren Hilfe der Druckdeckel 8 des Fermentationsbehälters 2 auf diesen herabgelassen oder angehoben werden kann. Der Druckdeckel 8 bildet zugleich die vertikale Düsenanordnung, indem über den Druckdeckel 8 die Zufuhr von Druckgas oder bioreaktiven Stoffen zu den vertikal von dem Druckdeckel 8 abstehenden vertikalen Leitungsrohren 14 erfolgt. Die vertikalen Leitungsrohre 14 können unterschiedlich lang sein, wobei die Spitzen der Leitungsrohre 14 mit den Düsen 16 sich bei geschlossenem Druckdeckel 8 im Bereich des Boden des Fermentationsbehälters befinden. Durch das Absenken des Druckdeckels können die Düsen 16 auch feste Substrate im Reaktorraum penetrieren. In der geschlossenen Stellung des Druckdeckels kann der Fermentationsbehälter 2 druckdicht abgeschlossen werden.

Die Spindeln 22 werden mit Hilfe von an der Oberseite des Gestells 6 angeordneten Handkurbeln 27 betätigt.

Eine hohle Druckplatte 8 dient als Druckdeckel des Bioreaktors 1 und ist eine von zwei Möglichkeiten, den Bioreaktorraum im Fermentationsbehälter 2 zu belüften oder mit Medien zu versorgen. Sie kann vertikal von Schienen geführt sein und verschließt den Fermentationsbehälter 2 bei Betrieb hermetisch. Wenn der Bioreaktor 1 mit dem umzusetzenden Substrat beschickt werden soll, kann der Druckdeckel 8 neben der vorstehend beschriebenen mechanischen Art auch hydraulisch oder pneumatisch nach oben gefahren werden.

An der Oberseite hat der Druckdeckel 8 einen manuell oder elektronisch steuerbaren Anschluss für die Zufuhr von Druckluft (o. definierten Gasen). Optional kann der Anschluss auch für die Zufuhr von flüssigen definierten Medien, z. B. benötigte Co-Substrate, Vitamine, Mineralstoffe, Puffer oder

Antibiotika genutzt werden. Die Luft trifft in dem Druckdeckel 8 zunächst auf eine Prallplatte 45. An der Unterseite des Druckdeckels 8 sind auswechselbare Leitungsrohre 14 mit Düsen 16 in Gewinde eingeschraubt. Baut sich ein Druck in dem Druckdeckel 8 auf, strömt die Luft kontinuierlich durch an den Spitzen der Leitungsrohre 14 befindliche Düsen 16 in den Reaktorraum 49 des Fermentationsbehälters 2 und belüftet diesen gleichmäßig. Neben der milden Durchmischung des Reaktorraums durch den kontinuierlichen Luftstrom, kann optional durch in definierten Intervallen gegebene starke Druckluftpulse eine deutliche Durchmischung des Reaktorraums erreicht werden.

Durch die unterschiedliche Länge der auswechselbaren, in den Druckdeckel 8 einschraubbaren Leitungsrohre 14 ist es möglich, den Reaktorraum 49 gezielt zu belüften. Durch bis zum Boden des Fermentationsbehälters 2 reichende Düsen 16 kann ein homogener, aerober Reaktionsraum geschaffen werden. Bei der Wahl kürzerer Düsen wird ein definierter Raum mit geringem Sauerstoff-Partialdruck erzeugt. Der Bioreaktor 1 kann entweder ohne Begasung (in diesem Fall können die Gewinde des Druckdeckels 8 durch Blindstopfen geschlossen werden) oder durch Zufuhr von definierten O<sub>2</sub>-freien Gasen auch obligat anaerob gefahren werden. In diesem Fall sollten die möglicherweise zuzugebenden Medien vor Zugabe entgast werden.

Optional können flüssige Medien durch diese Düsen 16 auch aus dem Druck- oder Mischbehälter 44,46 in den Bioreaktor 1 eingelassen werden. Falls erforderlich, kann die Belüftung in diesem Fall durch die horizontal den Reaktorraum 49 durchziehende Düsenanordnung 20 erfolgen.

Die Fig. 4 und 5 zeigen die in dem Fermentationsbehälter 2 angeordnete horizontale Düsenanordnung 20, die ebenfalls entweder mit Druckluft 48 oder mit einem flüssigen bioreaktiven Stoff 50 beaufschlagt werden kann. Die horizontale Düsenanordnung 20 kann, wie aus Fig. 5 ersichtlich, ein-



seitig in einer Stirnwand des Fermentationsbehälters 2 oder beidseitig in den Stirnwänden gelagert sein. Des weiteren kann vorgesehen sein, dass die horizontale Düsenanordnung in unterschiedlichen Höhen an der Stirnwand gelagert wird.

Wie aus Fig. 5 ersichtlich, besteht die horizontale Düsenanordnung 20 aus drei sich horizontal und parallel zueinander durch den Fermentationsbehälter 2 erstreckenden Leitungsrohren 24, die jeweils eine Vielzahl von Düsenöffnungen 28 aufweisen. Die drei Leitungsrohre 24 sind untereinander über eine Einlassverzweigung 20a und eine Auslassverzweigung 20b verbunden.

Wie aus Fig. 5 ersichtlich, kann die horizontale Düsenanordnung 20 um eine horizontale Drehachse gedreht werden, um zusätzlich eine gute Durchmischung des Behälterinhaltes zu erreichen. Bei Rotation der horizontalen Düsenanordnung 20 ist die Länge der Leitungsrohre 14 der vertikalen Düsenanordnung 10 so zu wählen, dass keine Kollision zwischen den Leitungsrohren 14 und den Leitungsrohren 24 auftreten kann. Alternativ kann - wenn keine Sterilität des Fermentationsvorgangs erforderlich ist - die vertikale Düsenanordnung so weit vertikal nach oben herausgefahren werden, dass keine Kollision zwischen den Leitungsrohren 14 und 24 auftreten kann. Für Einhaltung steriler Bedingungen ist die rotierbare horizontale Düsenanordnung 20 vorzugsweise an der tiefstmöglichen Stelle im Fermentationsbehälter 2 angeordnet. Die Leitungsrohre 14 sind dann vorzugsweise derart verkürzt, dass sie gerade nicht in den Drehbereich hineinragen. Die äußeren, benachbart zu den Seitenrändern des Fermentationsbehälters 2 angeordneten Leitungsrohre 14 sind hierbei länger als weiter innen angeordnete Leitungsrohre.

Die Auslassverzeigung 20b kann ein Ventil aufweisen, um den Auslass zu verschließen bzw. auch als Einlassverzweigung eingesetzt werden, wobei das in die Leitungsrohre 24 zugeführte Material vollständig durch die Dü-

senöffnungen 28 treten muss. Die Auslassverzweigung 20b kann auch vollständig entfallen. Dies erfordert allerdings einen stabileren Aufbau der Düsenanordnung 20.

Die Düsenanordnung 20 kann auch zum Heizen/Kühlen verwendet werden, indem die Düsen 28 verschlossen werden, oder die Düsenanordnung 20 durch ein entsprechendes Rohrsystem ohne Düsen ersetzt wird. Dabei dient die Einlassverzweigung 20a als Zufuhr der temperierten Heiz-/Kühlflüssigkeit und die Auslassverzweigung 20b als Abfluss derselben. Eine derartige als Kühlanordnung ausgebildete Düsenanordnung 20 kann ebenfalls drehbar sein. Ferner können mehrere Düsen-/Kühlanordnungen vorgesehen sein, sodass gleichzeitig beispielsweise eine drehbare horizontale Düsenanordnung und eine drehbare horizontale Kühlanordnung in einem Behälter 2 angeordnet sein können.

Selbstverständlich ist es möglich, die vertikale Düsenanordnung 10 mit Druckgas 48 und die horizontale Düsenanordnung 20 mit dem bioreaktiven Stoff 50 und umgekehrt zu beaufschlagen.

Die zweite Düsenanordnung 20 durchzieht den Reaktorraum 49 horizontal. Sie kann in unterschiedlichen Höhen eingesetzt werden und ist um ihre Achse drehbar gelagert. Diese Düsenanordnung wird zur Versorgung des Bioreaktors mit flüssigen definierten Medien, z. B. Wasser, benötigte Co-substrate, Vitamine, Mineralstoffe, Puffer oder Antibiotika genutzt, kann aber optional zur Belüftung und Durchmischung des Bioreaktors 1 eingesetzt werden. Bei der Fermentation von flüssigen oder wasserlöslichen Substanzen kann die horizontale Düsenanordnung durch einen an der Außenseite des Bioreaktors 1 befindlichen Motor rotiert werden und so zu einer deutlichen Durchmischung des Bioreaktorinhalts beitragen. In diesem Fall werden kürzere vertikale Leitungsrohre 14 eingesetzt und die horizontale Düsenanordnung 20 in deren unterster Arretierung eingesetzt.



Die Durchmischung des Bioreaktorinhalts bei der Fermentation fester Substanzen und die Versorgung des Bioreaktors 1 sowohl mit Luftsauerstoff oder definierten Gasen als auch mit Medium wird pneumatisch durch Druckluft erreicht. Über den Weg eines Druckbehälters 44, der in diesem Fall auch als Medienvorratstank verwendet wird, gelangt die Luft in den Druckdeckel 8 und von da aus in die vertikalen bzw. optional in die horizontalen Düsen 16,28. Zwischen dem Druckbehälter 44 und dem Druckdeckel 8 befindet sich ein Absperrventil 26. Wird das Absperrventil 26 geschlossen und der Absperrventil 7 am Boden des Druckbehälters 44 geöffnet, wird Medium durch die Druckluft über das horizontale und optional auch über die vertikale Düsenanordnung 10,20 in den Bioreaktor 1 gedrückt.

Fig. 6 zeigt ein Ausführungsbeispiel bei dem anstelle des Druckbehälters 44 ein Mischbehälter 46 an den Bioreaktor 1 angeschlossen ist. Mit dem Mischbehälter 46 sind mehrere Druckbehälter 52,54,56,58,60 verbunden, die unterschiedliche flüssige bioreaktive Stoffe, sowie Druckgas, z.B. Druckluft, enthalten. Diese unterschiedlichen Stoffe können dem Mischbehälter 46 zugeführt werden und in diesem in einem gewünschten Verhältnis gemischt werden. Über die Druckluftzuleitung 17 und das Absperrventil 18 gelangt Druckluft zu einer Verteileinrichtung 23, die die Druckluft 48 auf alle angeschlossenen Druckbehälter 52,54,56,58 und 60 sowie auf den Mischbehälter 46 verteilt. Die Druckluftzuleitungen 25 für die einzelnen Druckbehälter weisen jeweils ein Absperrventil 26 auf. Von der Verteileinrichtung 23 zweigt auch die Druckluftleitung 3 für den Fermentationsbehälter 2 ab.

Um unterschiedliche Medien gezielt in den vorgestellten Bioreaktor 1 einbringen zu können, wird das pneumatisches System aus mehreren Druckbehältern 52,54,56,58,60 unterschiedlichen Volumens genutzt. Fig. 6 zeigt eine Anwendung mit fünf austauschbaren und getrennt voneinander

autoklavierbaren Druckbehältern (z. B. für Medium, zwei Puffer, Spurenelementlösung und Antibiotikallösung), bei denen graduierte Steigrohre 19 die jeweiligen Füllstände der Druckbehälter 52,54,56,58,60 anzeigen. Die Druckluft gelangt über eine Verteileinrichtung 23 in das pneumatische System. Ein Teil kann bei Bedarf zur Belüftung des Bioreaktors 1 direkt in die vertikale und/oder horizontale Düsenanordnung 10,20 geleitet werden. Die unabhängig voneinander regulierbaren Druckbehälter sind mit der Verteileinrichtung 23 verbunden. Die jeweiligen Medien aus den einzelnen Druckbehältern werden in einen Mischbehälter 46 gegeben. Ist der Mischbehälter mit den unterschiedlichen Medien gefüllt, wird der Druckausgleich über eine Druckausgleicheinrichtung 47 ermöglicht und durch eine weitere Druckgasleitung 34 der Verteileinrichtung 23 z.B. Druckluft in den Druckbehälterboden gepresst. Dadurch erfolgt die Durchmischung der unterschiedlichen Lösungen. Ist der Mischvorgang beendet, wird der Mischbehälter 46 unter Druckluft gesetzt und das gewünschte Medium in die horizontale und/oder vertikale Düsenanordnung 10,20 eingeleitet.

Jeder Druckbehälter kann mit einem Steigrohr 19 versehen sein. Die Zuführleitungen 29 für die bioreaktiven Stoffe aus den Druckbehältern weisen jeweils ein Absperrventil 30 auf.

Von der Verteileinrichtung 23 zweigt desweiteren eine Druckgasleitung 34 ab, die ein Absperrventil 35 enthält, wobei die Druckgasleitung 34 zu einer Abflussleitung 37 am Boden des Mischbehälters 46 führt, um für den Mischvorgang beispielsweise Druckluft zuzuführen. Die Abflussleitung ist mit einem Absperrventil 39 versehen. Von der Abflussleitung 37 zweigt eine Zuführleitung 42 mit einem Absperrventil 43 ab, über die die gemischten bioreaktiven Stoffe 50 dem Bioreaktor 1 zuführbar sind.

Der Mischbehälter 46 ist desweiteren mit einer Druckausgleicheinrichtung 47 für den Druckausgleich beim Mischvorgang versehen.

Das Druckgas kann der vertikalen und/oder horizontalen Düsenanordnung 10,20 auch in pulsierender Form zugeführt werden.

Mit dem Fermentationsbehälter 2 ist eine Messeinrichtung 70 verbunden. Die Messeinrichtung 70 weist eine Messkammer 72 auf, die über eine Zuführleitung 74 mit dem Fermentationsbehälter 2 verbunden ist. Durch die Zuführleitung 74 fließt aus dem Fermentationsbehälter 2 das zu messende Medium in die Messkammer 72. Um unabhängig von den Bedingungen in der Messkammer 72 die Fließrichtung aus dem Fermentationsbehälter 2 in die Messkammer 72 festzulegen, ist in der Zuführleitung 74 ein Rückschlagventil 76 angeordnet.

In der Messkammer 72 sind mehrere Messelektroden 78 vorgesehen, die über Leitungen 80 mit einer Messeinrichtung 82, die vorzugsweise computergesteuert ist, verbunden sind. Durch die Messelektroden 78 kann beispielsweise eine pH-, Sauerstoff-, Temperatur- und Ionen-Messung erfolgen.

Am Tiefpunkt der im Wesentlichen rautenförmigen Messkammer 72 ist mit der Messkammer 72 eine Rückführleitung 84 verbunden. Über die Rückführleitung 84 wird das gemessene Medium in den Fermentationsbehälter 2 zurückgeführt.

Zum Zurückführen des Mediums in den Fermentationsbehälter 2 wird die Messkammer 72 mit Druck beaufschlagt. Hierzu ist der Messkammer 72 eine Druckkammer 86 zugeordnet. Die Druckkammer 86 ist über Leitungen 88, 90 mit einer Druckluftquelle verbunden. Zur Erzeugung eines Überdrucks in der Druckkammer 86 ist ein Ventil 92 geöffnet und ein Ventil 94 geschlossen, so dass die Druckluft in Richtung der Pfeile 96 in die Druckkammer 86 strömt.

Um Medium aus der Messkammer 72 durch die Rückführleitung 84 in den Fermentationsbehälter 2 zurückzuführen, wird das Ventil 92 geschlossen und das Ventil 94 geöffnet. Hierdurch strömt die Druckluft aus der Druckkammer 86 in Richtung der Pfeile 98 durch eine mit der Messkammer 72 verbundenen Leitung 100 in die Messkammer 72 und erzeugt hierin einen Überdruck. Der definierte Überdruck in Druckkammer 86 ist zu dem Volumen der zu verdrängenden Flüssigkeit in der Messkammer 72 direkt proportional. Aufgrund des in der Messkammer 72 entstehenden Überdrucks wird das Rückschlagventil 76 in der Zuführleitung 74 geschlossen und das in der Messkammer 72 befindliche Medium wird durch die Rückführleitung 84 in den Fermentationsbehälter 2 zurückgedrückt. Um eine gleichmäßige Verteilung des Luftdrucks in der Messkammer zu erreichen und Verwirbellungen zu vermeiden, ist im Bereich des Einlasses der Druckluft in die Messkammer 72 ein Prallblech 102 vorgesehen.

Sobald das Medium aus der Messkammer 72 in den Fermentationsbehälter 2 zurückgefördert ist, wird das Ventil 94 wieder geschlossen und das Ventil 92 geöffnet. Hierdurch baut sich erneut ein Überdruck in der Druckkammer 86 auf. Sobald das Ventil 94 geschlossen ist, findet in der Messkammer 72 ein Druckausgleich statt, so dass das Rückschlagventil 76 durch aus dem Fermentationsbehälter 2 strömende Medium wieder geöffnet wird. Bei dem Ventil 76 kann es sich ferner um eine schaltbares Ventil handeln, um beispielsweise die der Messkammer 72 zugeführte Menge an zu messendem Medium zu steuern.

Die vorliegende Erfindung betrifft ebenfalls ein Verfahren zur aeroben Fermentierung fester Stoffe, wobei das diese festen Stoffe enthaltende Reaktionsmedium durch von oben in das Reaktionsmedium zugeführtes Druckgas 48 durchmischt wird. Dies erfolgt erfindungsgemäß dadurch, dass das Druckgas mittels geeigneter Vorrichtungen (wie z. B. eine vertikale Düsenanordnung 10, wie vorstehend beschrieben) direkt in das Re-

aktionsmedium eingeleitet wird, sodass die sich ausbreitenden Gasblasen eine Durchmischung bewirken. Da bei der aeroben Fermentation vorzugsweise sauerstoffreiches Druckgas (wie Luft, mit O<sub>2</sub> angereicherte Luft oder O<sub>2</sub>) verwendet wird, wird durch dieses Verfahren auch der Sauerstoffgehalt in dem Reaktionsmedium erhöht, was üblicherweise die Fermentation zusätzlich beschleunigt. Das Einführen des Druckgases kann kontinuierlich (nachfolgend auch als "Belüftung" bezeichnet) oder durch Druckgaspulse (nachfolgend auch "Durchmischung bezeichnet) erfolgen.

"Feste Stoffe" im Sinne des erfindungsgemäßen Verfahrens sind dabei vorzugsweise Kohle, Holz und belastete Böden. Das erfindungsgemäße Verfahren ist insbesondere zur Fermentierung von Kohle, insbesondere von Braunkohle, geeignet. Die letztere besteht aus drei durch ihre unterschiedliche Löslichkeit in Abhängigkeit vom pH-Wert definierte Faktoren:

1. Huminsäuren, die durch 0,1 N NaOH-Lösung extrahierbar sind;
2. Fulvinsäuren, die auch im sauren Milieu löslich sind;
3. der als Matrix bezeichnete unlösliche Rückstand.

Zur Verflüssigung der Braunkohle wird das Ausgangsprodukt, das gegebenenfalls vorbehandelt oder voroxidiert sein kann, in zermahlenem Zustand (Partikelgröße vorzugsweise 0,1 mm bis 2 cm, besonders bevorzugt 1 bis 10 mm) mit einer zur Solubilisierung ausreichenden Menge Lösungsmittel (d. h. Wasser oder Lösungsmittelsysteme auf wässriger Basis), Nährstoffe, Puffer (einschließlich Puffersubstanzen, Säuren, Basen) und Mikroorganismenkultur versetzt und unter Durchmischung mit sauerstoffhaltigem Druckgas kultiviert.

Geeignete Mikroorganismen für die Solubilisierung von Braunkohle sind dabei Schimmelpilze, Weißfäulepilze und Hefen. Ein bevorzugter Mikroorganismus für diesen Anwendungszweck ist *Trichoderma atroviride*. Die Nährstoffe die für dieses Fermentationsverfahren eingesetzt werden richten sich stark nach der Art des verwendeten Mikroorganismus. Bevorzugt

ist dabei insbesondere die Zugabe von Kohlenstoffquellen zu Beginn der Reaktion an den die Braunkohle verflüssigenden Mikroorganismus, um einen Wachstumsvorteil zu gewährleisten.

Es werden Puffersubstanzen eingesetzt, die den gewünschten pH-Wert zum jeweiligen Reaktionszeitpunkt gewährleisten. So wird zu Beginn der Reaktion, wo ein pH von 5,5 bis 6,0 bevorzugt ist, und in der Verflüssigungsphase, wo ein pH von 6,5 bis 7,2 bevorzugt ist, vorzugsweise ein Citrat-/Phosphatpuffer mit einem pH von 3 verwendet, da der Pilz beim Wachstum das Medium selbst alkalisiert und nur gegentitriert werden muss. Besonders bevorzugt wird zu Versuchsbeginn ein pH von 5,5 eingestellt. Die Fermentation erfolgt bevorzugt bei einer Temperatur von 15 bis 35 °C.

In einer bevorzugten Ausführungsform wird die Braunkohle, das Braunkohle/Lösungsmittelgemisch oder das Braunkohle/Lösungsmittel/Nährmittelgemisch vor der Zugabe der fermentierenden Mikroorganismen sterilisiert bzw. tyndalisiert. Dies erfolgt vorzugsweise durch mehrere Zyklen eines mindestens 45minütigen Erhitzens auf Temperaturen über 75 °C, vorzugsweise über 80 °C, und nachfolgende Abkühlung für mehrere Stunden auf Raumtemperatur.

Bei den 80°C Schritten wurden die physiologisch aktiven Mikroorganismen in Substrat, Medium und Reaktorraum, nicht jedoch ruhende Sporen abgetötet. In den Zeiten mit moderaten Temperaturen keimten die Sporen und wurden in dem dann folgenden anschließenden Hitzeschritt abgetötet.

Beim konventionellen Tyndalisieren wird ein dreimaliges Erhitzen einer Flüssigkeit oder eines Nährmediums verstanden. In den Intervallen zwischen den Temperaturschritten wird das Gut bei Raumtemperatur aufbewahrt (Eckhard Bast, 1999, Mikrobiologische Methoden: eine Einführung



in grundlegende Arbeitstechniken - Heidelberg, Berlin; Spektrum, Akad. Verl. ISBN 3-8274-0786-9).

Die gemäß dem vorliegenden Verfahren erhältliche mikrobiell solubilisierete Kohle kann als Kohlenstoff- und Energiequelle für Bakterien verwendet werden, die in der Lage sind, aus dem chemisch heterogenen Massenprodukt Kohle einen chemisch charakterisierten Stoff wie z. B. Polyhydroxyfettssäuren für die Synthese biologisch abbaubarer Kunststoffe zu produzieren (A. Steinbüchel und B. Fuchtenbusch, Proceedings ICCS 97, 1673 - 1676 (1997)). Der aliphatische, mikrobiell nicht zu verflüssigende Rest, der einen geringeren Wasser- und Ascheanteil und somit einen höheren spezifischen Brennwert aufweist, kann zum einen für die direkte thermische Nutzung (R. Köpsel et al., Freiburger Forschungshefte, 159 - 166 (1998)) zum anderen für weitere anschließende Fermentationsprozesse durch aliphatenabbauende Hefen genutzt werden (U. Hölker et al., Proceedings of the 16<sup>th</sup> SMYTE, Slowakei, S. 16 (1998); Folia Microbiol 44, 226 - 227 (1999)).

Besonders bevorzugt wird das erfindungsgemäße Verfahren in dem vorstehend beschriebenen Bioreaktor durchgeführt.

Die vorliegende Erfindung wird anhand des nachfolgenden Beispiels näher erläutert.

## **Beispiele**

### Allgemeine Verfahren

Das Produkt "verflüssigte Kohle" wurde als der Probeüberstand definiert, der nach 20 min Zentrifugieren bei 10 000 g erhalten wurde. Der Grad der Verflüssigung wurde mittels der optischen Dichte bei 450 nm oder über das Trockengewicht des Überstands bestimmt. Um die Huminsäure-

verbindungen von Fulvinsäureverbindungen zu trennen, wurde der Überstand auf pH 1,5 angesäuert und erneut zentrifugiert. Die verflüssigten Produkte wurden bezüglich ihrer optischen Dichte, Huminsäure- und Fulvinsäuregehalt und der bakteriellen Verunreinigung mittels Inkubation von Proben in Vollmedien und anschließender mikroskopischer Analyse charakterisiert.

#### Beispiel 1: Fermentation von Braunkohle

Ein erfindungsgemäßer Bioreaktor, wie in Fig. 1 bis 6 gezeigt, mit einer vertikalen Düsenordnung (10), einem Druckdeckel (8) mit bis zum Boden des Reaktorraums (49) reichenden Leitungsrohren (14) mit Düsen (16) und einer starren horizontalen Düsenanordnung (20); Volumen 25 l) wurde mit 2500 g Braunkohle (Bergheim Lithotyp A, Partikelgröße 2 - 10 mm, Wassergehalt der Kohle ca. 50 %) als umzusetzender Feststoff in 10 l Wasser beschickt. Als kohlesolubilisierender aerober Pilz wurde *Trichoderma atroviride* eingesetzt (U. Hölker et al., Fuel Processing Technol., 52 65 - 71 (1997)). 50 g Glutamat wurden zugegeben, um die Induktion kohleverflüssigender Enzyme einzuleiten (U. Hölker et al., Appl. Microbiol. Biotechnol. 44, 351 - 255 (1995)). Der Anfangs-pH betrug 5,8, um dem Pilz gegenüber in der Kohle befindlichen Bakterien zunächst einen Wachstumsvorteil zu geben. Der zur Belüftung ausreichende kontinuierliche Luftdruck betrug 0,4 bar. Täglich wurde der Luftdruck durch die vertikale Düsenanordnung 10 für 10 s auf 3 bar erhöht, um den Reaktorinhalt zu durchmischen.

In einem semikontinuierlichen Ansatz wurden in Abständen von 24 Stunden über die horizontale Düsenanordnung (20) 800 ml Wasser zugegeben und eine gleiche Menge Reaktorinhalt am Ablaufsystem entnommen. In dieser Suspension wurde die optische Dichte, der pH-Wert, der Humin- und Fulvinsäureanteil bestimmt und auf bakterielle Kontamination überprüft. Erreichte der pH-Wert 7,3 wurde er über das Medienzulaufsystem auf 7,0 zurücktitriert (Fig. 8, Pfeile 1 - 5).



Die in diesem Fermentationsansatz angestrebte Ausbeute an solubilisierter Kohle betrug 3 mg Trockengewicht pro ml Suspension bei pH 7 pro Tag und sollte kontinuierlich über einen Zeitraum von 30 Tagen hinweg konstant gehalten werden. Dies entspricht einer angestrebten Ausbeute von ca. 2 g Solubilisationsprodukte pro Tag. Bei einem Anstieg über 3,3 mg Trockenmasse pro ml wurde durch Wasserzugabe über das Medienzulaufsystem der Reaktorinhalt verdünnt und wieder auf die gewünschte Konzentration eingestellt (Fig. 8, Pfeile 6 - 10).

Nach einer Fermentationszeit von 12 Tagen wurde die angestrebte Konzentration solubilisierter Kohle erreicht und in einem Zeitraum von weiteren 28 Tagen wurden 71 g Solubilisierungsprodukte im vorgeschlagenen Bioreaktor produziert.

#### Beispiel 2: Verfahren zur schonenden Sterilisierung von Bioreaktoren samt Inhalt; modifizierte Tyndalisierung

Ein erfindungsgemäßer Bioreaktor (wie in Fig. 1 bis 6 gezeigt, mit einer einföhrbaren vertikalen Düsenordnung (10) mit kurzen Leitungsrohren (14), Vorrichtungen zum Wärmeaustausch (51a, 51b, 51c) in der Außenwand einer rotierbaren horizontalen Düsenanordnung (20) und einer Messeinrichtung (70); Vol. 12,5 l) wurde, exakt wie in Beispiel 1 beschrieben, beschickt. Der Druckdeckel (8) wurde geschlossen und die Düsen (16) somit pneumatisch in das Substrat gepresst. Das pneumatische Umwälz- und Mess-System wurde aktiviert und im Minutenintervall wurde das Medium an dem Temperaturfühler der Messkammer vorbei und durch das horizontale Düsensystem (20) wieder in den Bioreaktor zurückgepumpt. Wasser wurde im Thermostaten auf 95°C erhitzt und durch den Mantel des Bioreaktors (51a, 51b, 51c) gepumpt, bis die Temperatur im Innenraum 80°C erreichte. Diese Temperatur wurde 45 min gehalten (unter ständiger Durchlüftung/Durchmischung durch das vertikale Düsensystem (10) und Umwälzens des Mediums durch das hori-

zontale Düsensystem (20)). Anschließend wurde der Bioreaktor durch temperiertes Wasser in der Ummantelung auf 25°C gekühlt, dabei 12 Stunden belüftet, durchmisch und umgewälzt. Anschließend wurde die Temperatur im Bioreaktorraum wie zuvor erneut für 45 Minuten auf 80°C eingestellt. Es folgte eine erneutes Abkühlen für 20 Stunden auf 25°C, gefolgt von einem dritten Erhitzen des Reaktorinnenraums auf 80°C für 45min

Um den Sterilitätserfolg zu überprüfen, wurde der Bioreaktor anschließend weiter durchmischt, belüftet und umgewälzt. Täglich (7 Tage) wurden 1 ml-Proben entnommen und mit diesen sowohl Petrischalen (1,2% Agar) als auch 50ml-Flüssigkulturen, die das im Bioreaktor verwendete Nährmedium enthielten, angeimpft. Die Petrischalen wurden 72 Stunden bei 25°C, die Flüssigkulturen bei 25°C und 120 rpm auf dem Schüttler inkubiert. Es zeigte sich, dass keine Kontaminationen unter diesen Bedingungen im Reaktorraum detektierbar waren.

Nachdem die Sterilitätskontrolle durchgeführt war, wurde der Bioreaktor mit dem kohlesolubilisierenden Pilz *T. atroviride* angeimpft und die Kohle analog Beispiel 1, jedoch bei einer eingestellten Temperatur von 25°C fermentiert. Es wurde 60 g Verflüssigungsprodukt erhalten.

## Patentansprüche

1. Bioreaktor zur Fermentierung fester Substrate mit einem Fermentationsbehälter (2), einer Zugabeeinrichtung für bioreaktive Stoffe und einer Düsenanordnung in dem Fermentationsbehälter (2) zur Belüftung und Durchmischung der Substrate, wobei die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) eine Vielzahl von parallel in den Reaktionsraum (49) des Fermentationsbehälters (2) hineinragende und mit Düsen (16,28) versehenen Leitungsrohren (14,24) aufweist, dadurch gekennzeichnet, dass eine erste, sich vertikal erstreckende Düsenanordnung (10) in den Reaktionsraum (49) des Fermentationsbehälters (2) ein- und ausfahrbar ist.
2. Bioreaktor nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass eine zweite horizontale Düsenanordnung (20) aus mindestens zwei sich horizontal und zueinander parallel durch den Reaktionsraum (49) erstreckenden, miteinander verbundenen Leitungsrohren (24) besteht, die jeweils eine Vielzahl von Düsenöffnungen (28) aufweisen.
3. Bioreaktor nach Anspruch 2, dadurch gekennzeichnet, dass die horizontale Düsenanordnung (20) um eine horizontale Drehachse drehbar ist.
4. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass der Fermentationsbehälter (2) einen im Querschnitt sich verjüngenden Bodenabschnitt (32) aufweist.
5. Bioreaktor nach Anspruch 4, dadurch gekennzeichnet, dass der konisch gestaltete Bodenabschnitt (32) in einer zur Horizontalen schräg verlaufenden Ablaufrinne (36) mündet, die an der tiefsten Stelle ein Ablaufventil (40) aufweist.

6. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) Druckgas (48) aus einem Druckbehälter (44,46) erhält.
7. Bioreaktor nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, dass in dem Druckbehälter (44,46) außer dem Druckgas (48) ein bioreaktiver flüssiger Stoff (50) enthalten ist.
8. Bioreaktor nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) alternativ Druckluft (48) oder den flüssigen bioreaktiven Stoff (50) aus dem Druckbehälter (44,46) erhält.
9. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass die mindestens eine Düsenanordnung (10,20) mit pulsierender Druckluft (48) beaufschlagbar ist.
10. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 2 bis 9, dadurch gekennzeichnet, dass die zweite Düsenanordnung (20) höhenverstellbar in dem Fermentationsbehälter (2) angeordnet ist.
11. Bioreaktor nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, dass mehrere mit Druckluft (48) beaufschlagte und mit einem Mischbehälter (46) verbundene Druckbehälter (52,54,56,58,60) vorgesehen sind, die unterschiedliche flüssige bioreaktive Stoffe enthalten.
12. Bioreaktor nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, dass der Mischbehälter (46) eine Druckausgleichseinrichtung (47) aufweist.
13. Bioreaktor nach Anspruch 11 oder 12, dadurch gekennzeichnet, dass die Druckbehälter (52,54,56,58,60) austauschbar und getrennt voneinander autoklavierbar sind.

14. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 5 bis 13, dadurch gekennzeichnet, dass die Ablaufrinne (36) mit einem Maschennetz (38) abgedeckt ist.

15. Bioreaktor nach einem der oder mehreren der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass ein Druckdeckel (8) des Fermentationsbehälters (2) die erste Düsenanordnung (10) aufnimmt, deren Leitungsrohre (24) vertikal von dem Druckdeckel (8) in den Reaktionsraum (49) hineinragen.

16. Bioreaktor nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass die vertikalen Leitungsrohre (14) der ersten Düsenanordnung (10) auswechselbar in dem Druckdeckel (8) angeordnet sind.

17. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass der Fermentationsbehälter (2) über eine Zuführleitung (74) mit einer Messkammer (72) und diese über eine Rückführleitung (84) mit dem Fermentationsbehälter (2) verbunden ist, und dass die Messkammer (72) zum Zurückführen von gemessenem Medium mit Druck beaufschlagbar ist.

18. Bioreaktor nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass eine Vorrichtung zum Wärmeaustausch vorgesehen ist, insbesondere mit einer Vorrichtung,

(i) in der der Fermentationsbehälter (2) doppelwandig ist und der so gebildete Hohlraum (51a) über ein Anschlussrohr (51b) und einem Abflussrohr (51c) mit temperierter Wärmetauschflüssigkeiten durchströmbar ist und/oder

(ii) die ein horizontales Rohrsystem (20) in den Fermentationsbehälter (2) ist, die mit temperierbarer Wärmeaustauschflüssigkeit durchströmbar ist.

19. Verfahren zur aeroben Fermentierung fester Stoffe, wobei ein diese festen Stoffe enthaltendes Reaktionsmedium durch von oben in das Reaktionsmedium zugeführtes Druckgas (48) durchmischt wird.

20. Verfahren nach Anspruch 19, wobei das Durchmischen durch einen kontinuierlichen Druckgasstrom oder durch Druckgaspulse erfolgt.

21. Verfahren nach Anspruch 19 oder 20, wobei die festen Stoffe ausgewählt sind aus Kohle, Holz und belasteten Böden.

22. Verfahren nach Anspruch 21, wobei der feste Stoff Kohle und insbesondere Braunkohle ist.

23. Verfahren nach Anspruch 22, wobei dem Reaktionsgemisch weiterhin ein zur Fermentation geeigneter Mikroorganismus, Nährstoffe und/oder Puffer zugegeben werden.

24. Verfahren nach Anspruch 22, wobei die Braunkohle oder das Braunkohle enthaltende Reaktionsmedium samt Bioreaktor vor der Fermentation oder der Zugabe des Mikroorganismus tyndalisiert wird.

25. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 22 bis 24, wobei

- (i) die Braunkohle eine Partikelgrößen von 1 bis 10 mm aufweist;
- (ii) der Mikroorganismus ausgewählt ist aus Schimmelpilzen, Hefen und Weißfäulepilzen und insbesondere *Trichoderma atroviride* ist;
- (iii) der pH des Reaktionsmediums bei Reaktionsbeginn von 5.5 bis 6.0 beträgt;
- (iv) der pH während der Solubilisierungsphase auf 6.5 bis 7.2 gehalten wird;
- (v) die Fermentation bei einer Temperatur von 25 °C bis 30 °C erfolgt und/oder

(vi) 1 bis 25 l Druckluft pro l Fermentationslösung pro Tag durch das Reaktionsmedium geleitet werden.

26. Verfahren nach einem oder mehreren der Ansprüche 19 bis 25, wobei die Reaktion in einem wie in Ansprüchen 1 bis 17 definierten Bioreaktor (1) erfolgt.





FIG.1

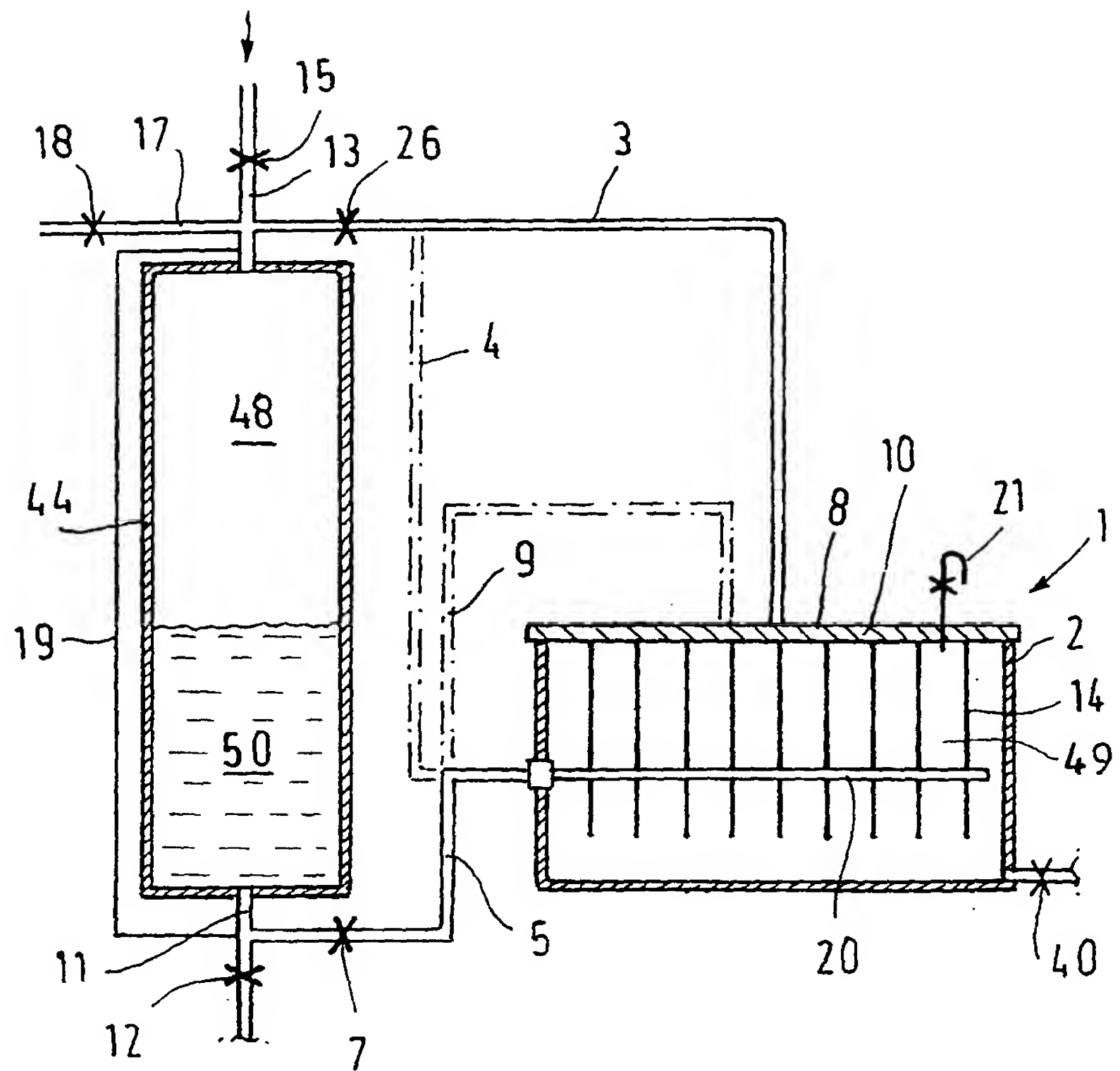




FIG. 2

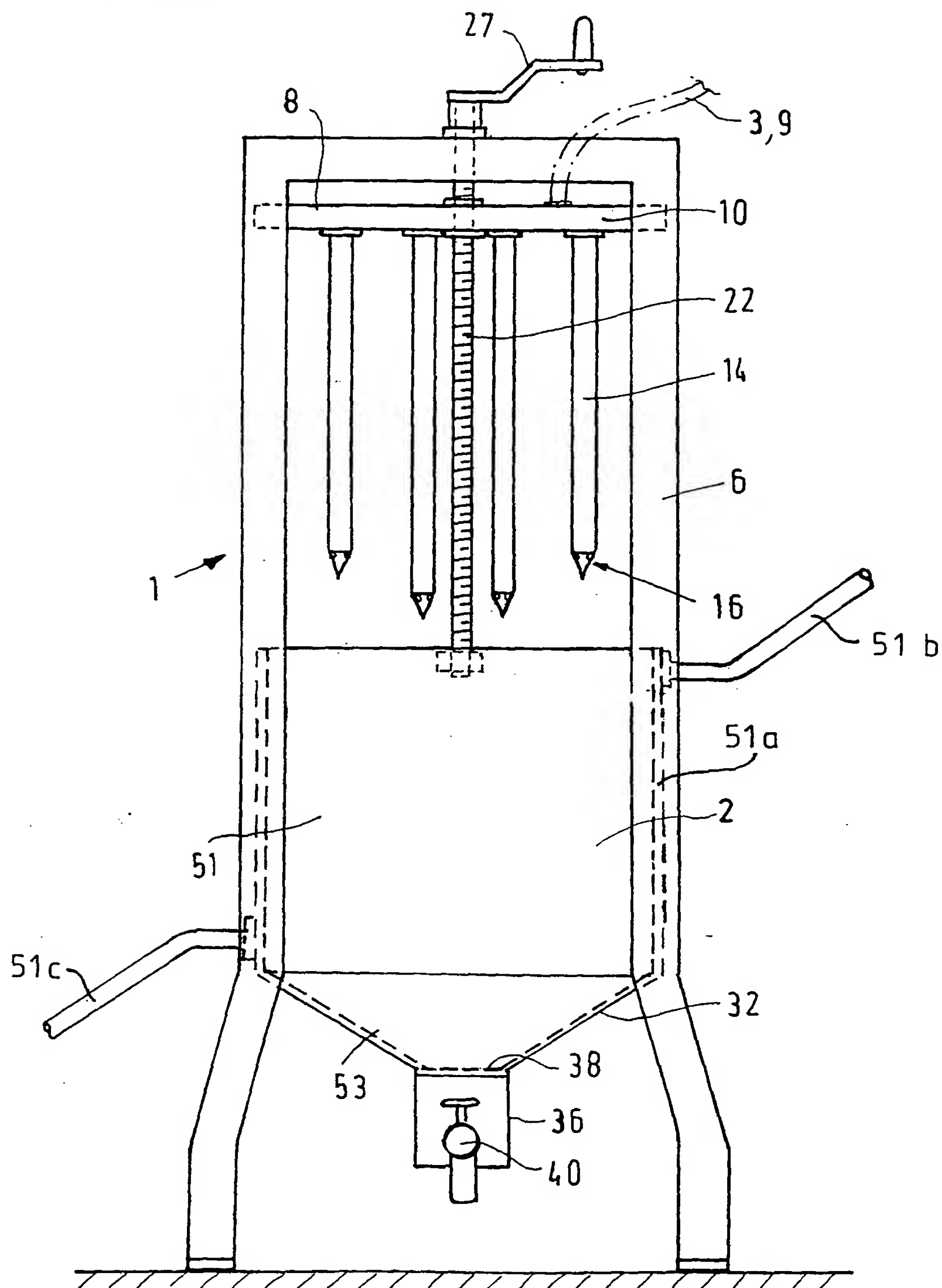
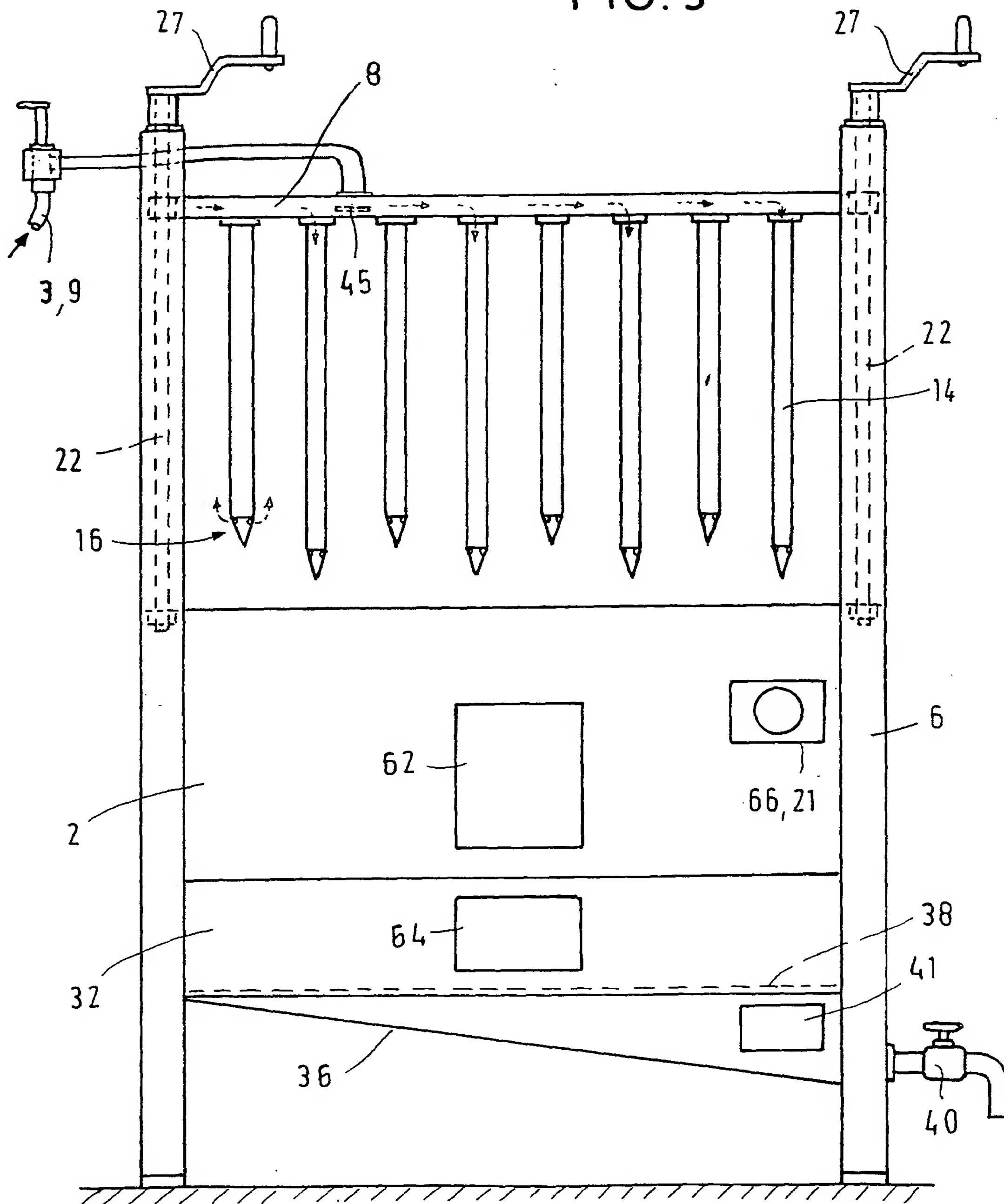




FIG. 3





- 4 / 7 -

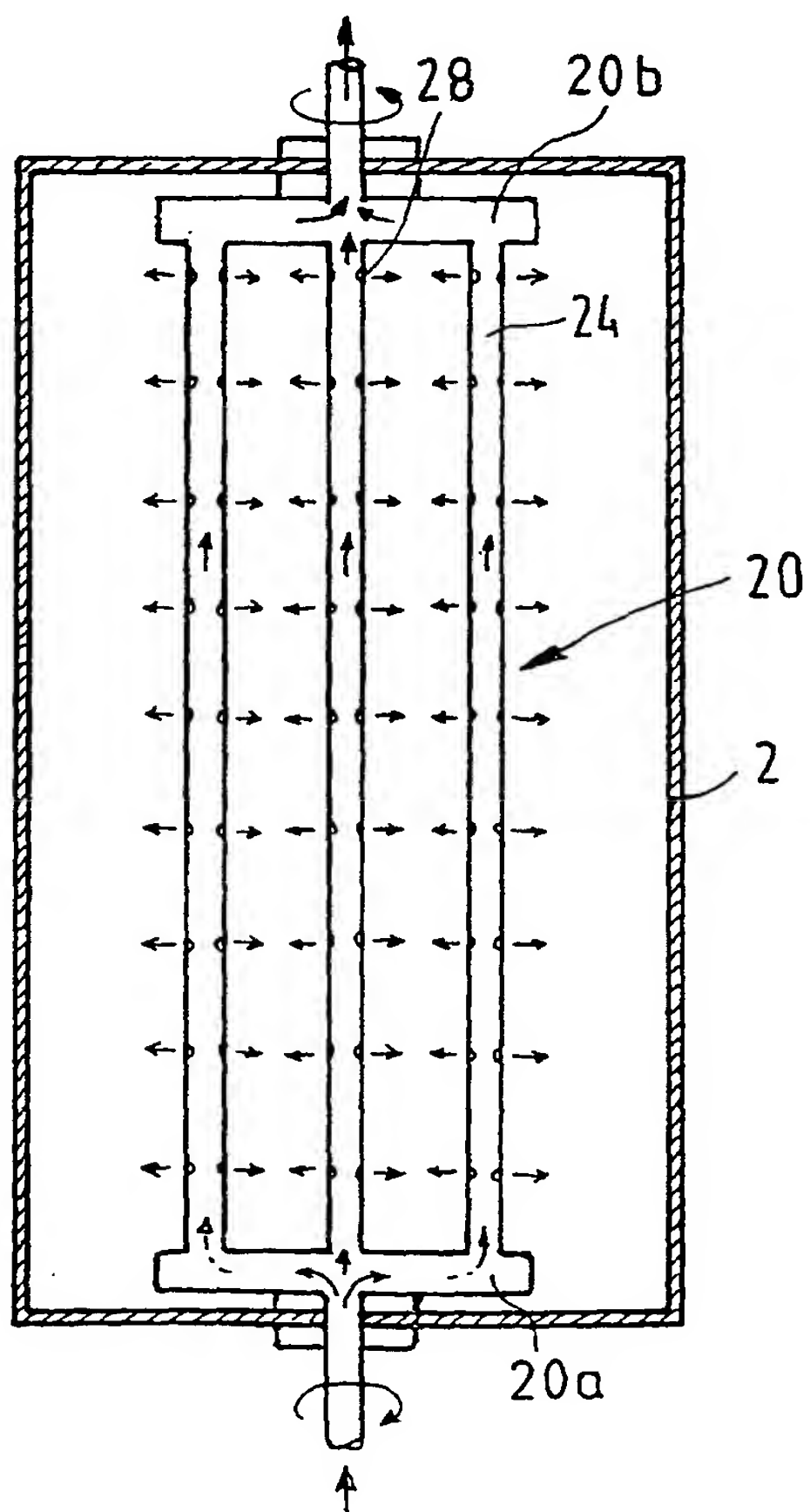
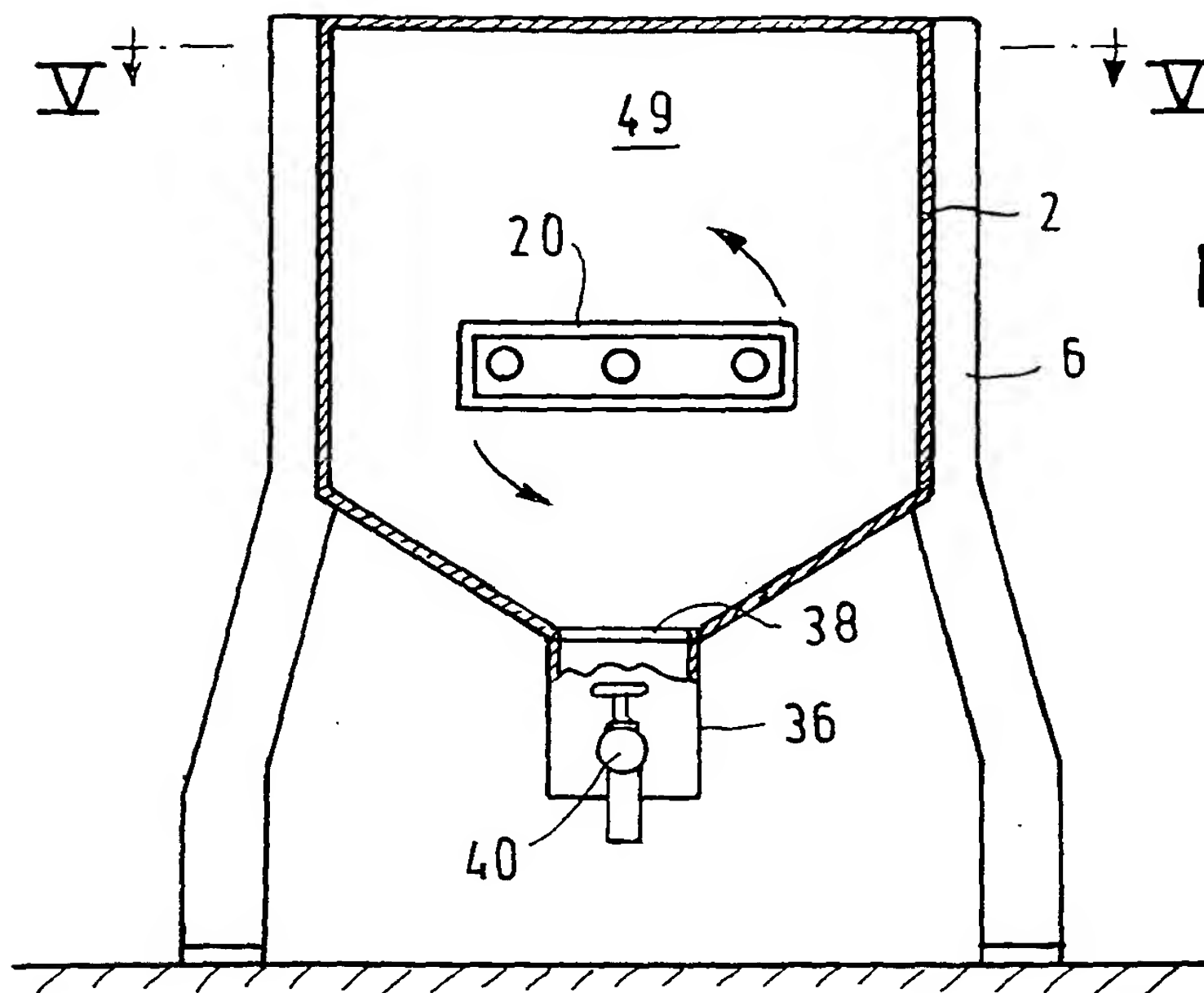
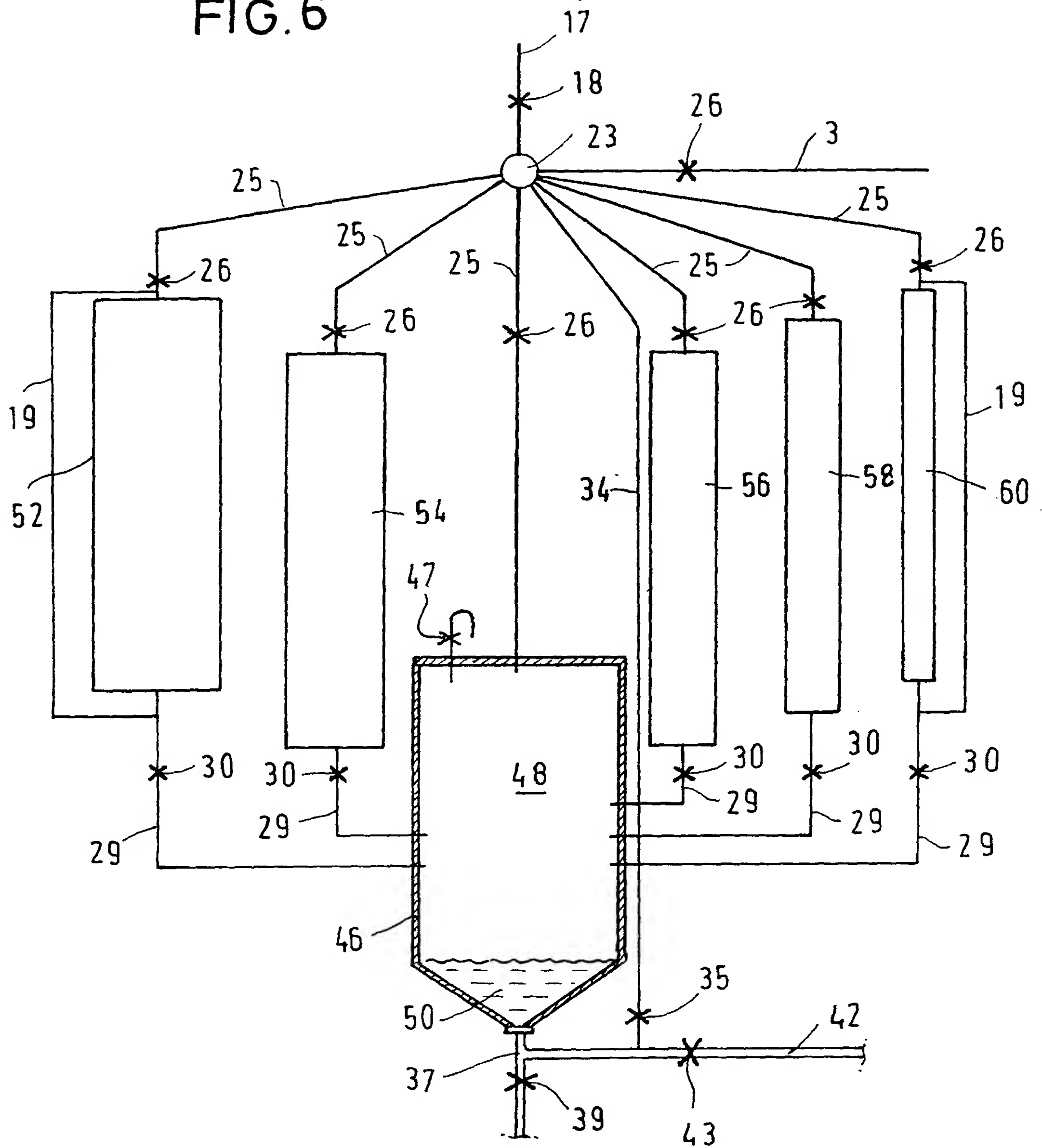






FIG. 6





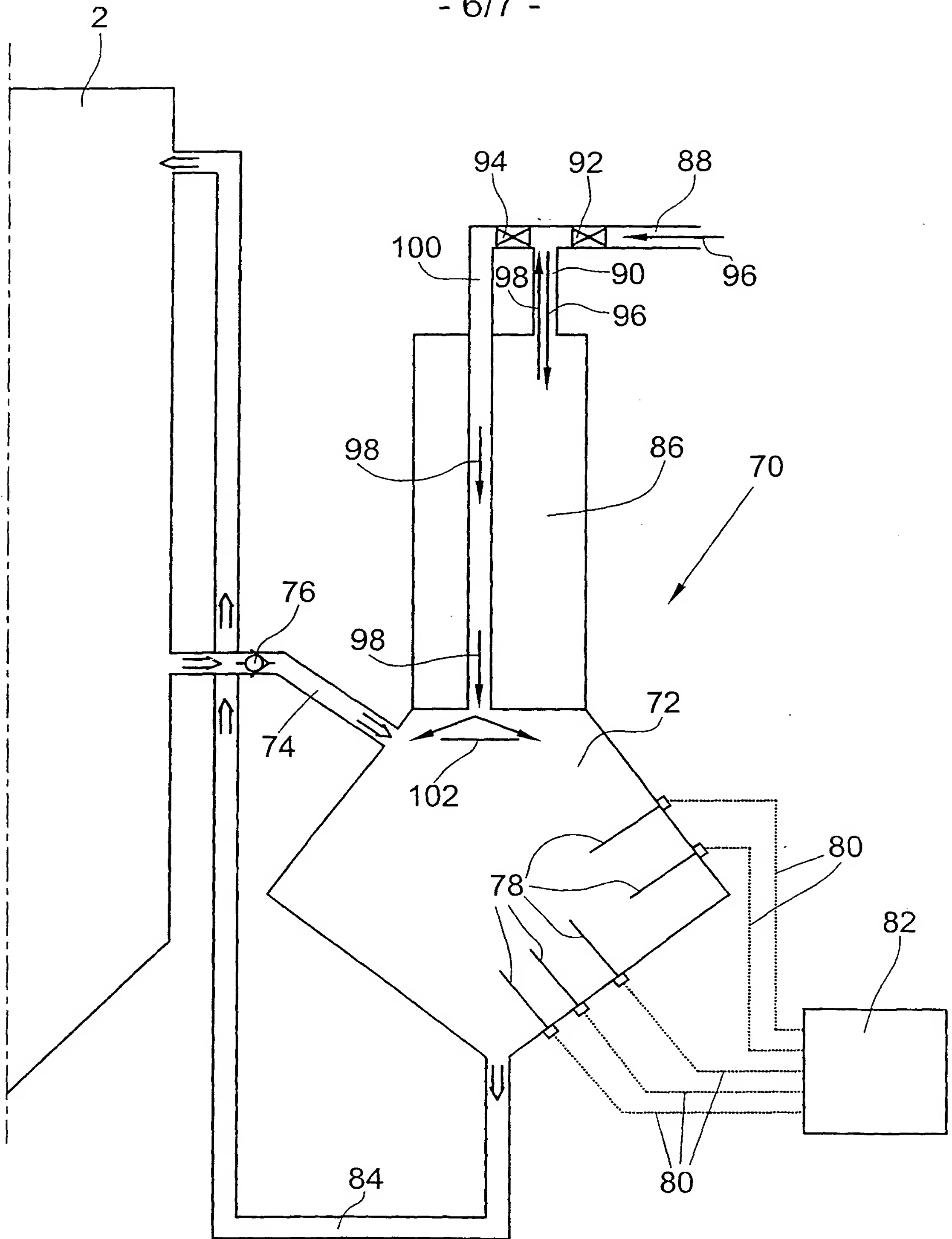
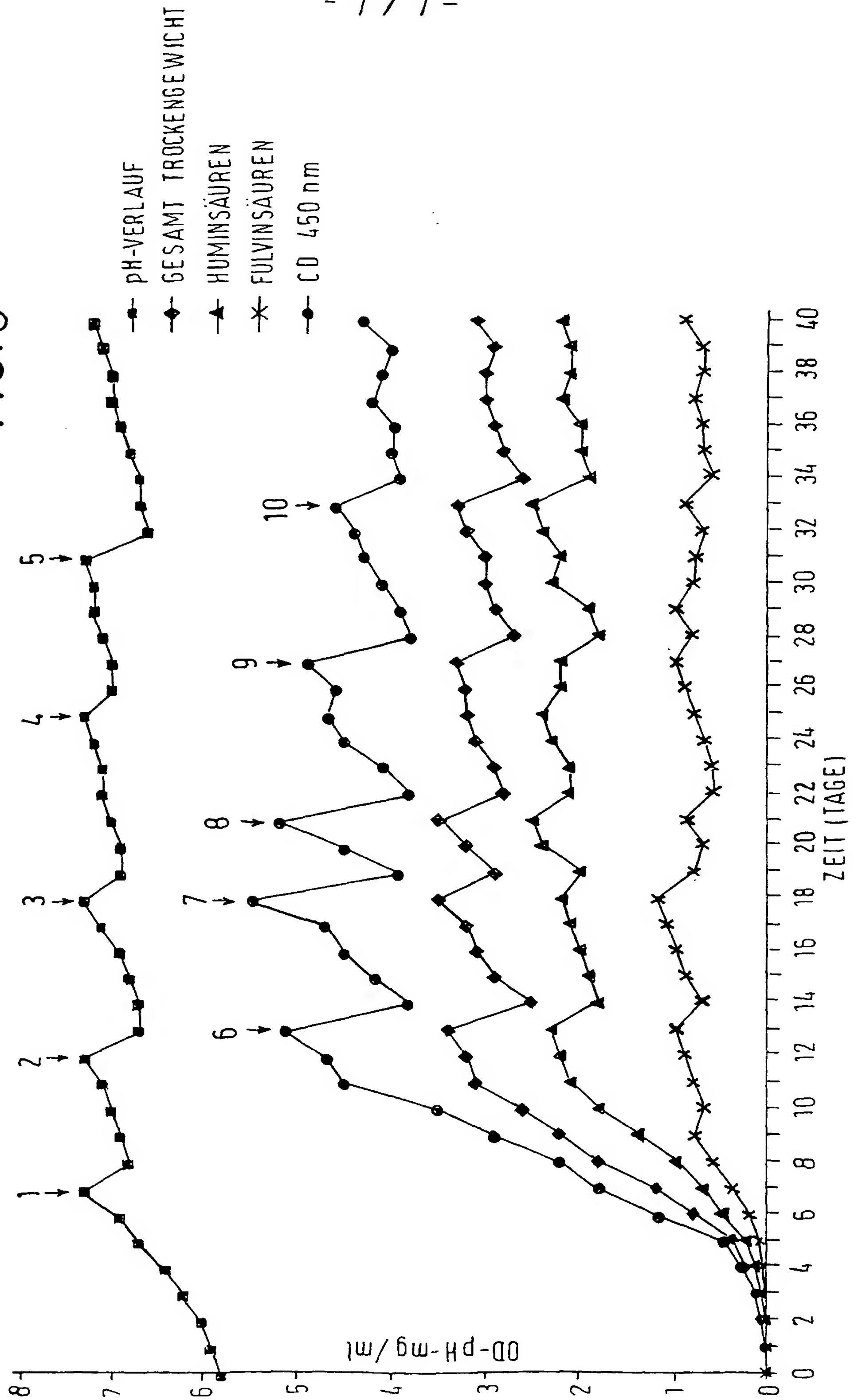


FIG.7



- 7 / 7 -

FIG. 8





.

.

.

.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No.  
PCT/EP 8929

## A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER<sup>6</sup>:

IPC<sup>6</sup> : C12M1/04, B09B3/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

C12M, B09B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X A	US 5153137 A (LAURENSEN, JR.) 6 October 1992 (06.10.92) the whole document	19, 20 1
X A	AT 395859 B (PORR UMWELTECHNIK AKTIENGESELLSCHAFT) 25 March 1993 (25.03.93) claims 1, 5, 7, 8.	19, 20, 21, 23 1, 9
X A	AT 395686 B (RANNER DIETRICH) 25 February 1993 (25.02.93) claims 1, 2.	19, 20 1

☒ Further documents are listed in the continuation of Box C.

☒ See patent family annex.

### \* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
6 December 2000 (06.12.00)

Date of mailing of the international search report  
24 January 2001 (24.01.01)

Name and mailing address of the ISA/  
EUROPEAN PATENT OFFICE  
Facsimile No.

Authorized officer

Telephone No.



.

,

,

,

,



## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internat. Aktenzeichen:  
P 00/08929A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
C12M1/04,B09B3/00Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK <sup>6</sup>

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
C12M,B09B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	US 5153137 A (LAURENSEN, JR.) 06 Oktober 1992, ganzes Dokument.	19, 20,
A	---	1
X	AT 395859 B (PORR UMWELTECHNIK AKTIENGESELLSCHAFT) 25 März 1993, Ansprüche 1, 5, 7, 8.	19, 20, 21, 23
A	---	1, 9
X	AT 395686 B (RANNER DIETRICH) 25 Februar 1993, Ansprüche 1, 2.	19, 20
A	----	1

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:

"A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist

"E" älteres Dokument das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist.

"L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)

"O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht

"P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist.

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"&amp;" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

06 Dezember 2000

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

24 01 2001

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde

Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

WOLF

# ANHANG

Zum internationalen Recherchenbericht über die internationale Patentanmeldung Nr.

# ANNEX

To the International Search Report to the international Patent Application No.

# ANNEXE

Au rapport de recherche international relatif à la demande de brevet international n°

PCT/EP 00/08929 SAE 303370

In diesem Anhang sind die Mitglieder der Patentfamilien der im obengenannten internationalen Recherchenbericht angeführten Patentedokumente angegeben. Diese Angaben dienen nur zur Unterrichtung und erfolgen ohne Gewähr.

This annex lists the patent family members relating to the patent documents cited in the above-mentioned search report. The European Patent Office is in no way liable for these particulars which are merely given for the purpose of information.

La présente annexe indique les membres de la famille de brevets relatifs aux documents de brevets cités dans le rapport de recherche international visée ci-dessus. Les renseignements fournis sont donnés à titre indicatif et n'engagent pas la responsabilité de l' Office.

Im Recherchenbericht angeführte Patentedokumente Patent document cited in search report Document de brevet cité dans le rapport de recherche	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication	Mitglied(er) der Patentfamilie Patent family member(s) Membre(s) de la famille de brevets	Datum der Veröffentlichung Publication date Date de publication
US A 5153137	06-10-1992	CA A1 1256711 DE C0 3577694 EP A2 173502 EP A3 173502 EP B1 173502 US A 4837153 US A 5092407 US A 5175106	04-07-1989 21-06-1990 05-03-1986 04-03-1987 16-05-1990 06-06-1989 03-03-1992 29-12-1992
AT B 395859	25-03-1993	AT A 799/91 CS A3 9201139 DE C0 59201253 DK T3 509980 EP A2 509980 EP A3 509980 EP B1 509980 ES T3 2069406 FI A0 921721 FI A 921721 HU A0 9201301 HU A2 68812 NO A0 921484 NO A 921484	15-08-1992 18-11-1992 09-03-1995 26-06-1995 21-10-1992 09-02-1994 25-01-1995 01-05-1995 16-04-1992 17-10-1992 29-06-1992 28-07-1995 14-04-1992 19-10-1992
AT B 395686	25-02-1993	AT A 2442/90 DE C0 59105442 DK T3 489705 EP A2 489705 EP A3 489705 EP B1 489705 EP B2 489705 ES T3 2074696 ES T5 2074696 FI A0 915696 FI A 915696 FI B1 104473 NO A0 914709 NO A 914709 NO B 179863 NO C 179863	15-07-1992 14-06-1995 09-10-1995 10-06-1992 10-02-1993 10-05-1995 06-05-1999 16-09-1995 16-09-1999 03-12-1991 04-06-1992 15-02-2000 29-11-1991 04-06-1992 23-09-1996 08-01-1997